

Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae)

IRFAN MARTIANSYAH

Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-LIPI
Jl. Ir. H. Juanda No.13 Bogor, Indonesia. 16122
Email: imartiansyah6311@gmail.com

ABSTRACT

Syzygium is a large genus in the Myrtaceae family consisting of approximately 1200–1800 species. However, only 1.123 species names (81.7%) are accepted. There are 240 (17.5%) synonyms of species names. The synonym occurred is due to the difficulty of identification of *Syzygium* species based on morphological characters. Any species showed overlapping characters, particularly on the flowers. The confidence level of taxa placement for *Syzygium* is 98.0%. Morphological character based-identification sometimes cannot be relied upon because the environment can influence it. It can lead to complexity in the identification process. DNA barcoding provides a way out of this problem, for it can identify specimens using a very short fragment of gene sequences obtained from a small amount of tissue. MaturaseK (*matK*) and Rubisco (*rbcL*), *internal transcribed spacer* (ITS) are genes commonly used in plant DNA barcoding. The genes can lead to species identification, genetic distribution and the reconstruction phylogenetic tree. In this review, the performance of those genes as DNA barcoding in *Syzygium* was assessed. In Myrtaceae, especially the *Syzygium* genus, several barcodes have been successfully applied, such as the *internal transcribed spacer* (ITS), ETS, *trnL-trnF intergenic spacer*, *psbA-trnH intergenic spacer*, *matK*, *rbcL*, and *ndhF*. However, no specific barcode sequence is relatively suitable and recommended as a standard for DNA barcoding of the genus *Syzygium*. Nevertheless, some promising sequence candidates, such as those mentioned above, are beneficial in several conditions.

Keywords: barcode; DNA barcoding; Myrtaceae; *Syzygium*

INTISARI

Syzygium adalah salah satu genus terbesar dalam famili Myrtaceae yang terdiri dari sekitar 1200-1800 spesies. Spesiesnya hanya diketahui sebanyak 1.123 spesies (81,7%) dan sebanyak 240 (17,5%) adalah sinonim dari nama spesies tersebut. Hal ini disebabkan sulitnya identifikasi spesies *Syzygium* berdasarkan karakter morfologis. Beberapa spesies menunjukkan karakter yang tumpang tindih, terutama bunganya. Tingkat kepercayaan penempatan taksa untuk *Syzygium* adalah 98,0%. Identifikasi berbasis karakter morfologis terkadang tidak dapat diandalkan, karena dapat dipengaruhi oleh lingkungan sehingga menyebabkan kesulitan dalam proses identifikasi. DNA barcoding sebagai salah satu pendekatan molekuler yang dapat diandalkan mampu mengidentifikasi spesimen menggunakan fragmen sekuen gen yang sangat pendek (gen penanda). Gen MaturaseK (*matK*), Rubisco (*rbcL*), *internal transcribed spacer* (ITS) adalah gen-gen penanda yang digunakan dalam DNA barcoding tanaman. Gen-gen tersebut memiliki peran penting dalam identifikasi spesies, distribusi genetik spesies serta dalam rekonstruksi filogenetik tanaman. Dalam ulasan ini, penggunaan gen-gen dalam pendekatan DNA barcoding di genus *Syzygium* akan dipaparkan dengan jelas. Pada Myrtaceae, khususnya genus *Syzygium*, gen penanda daerah *internal transcribed spacer* (ITS), ETS, *trnL-trnF intergenic spacer*, *psbA-trnH intergenic spacer*, *matK*, *rbcL*, dan *ndhF* telah berhasil diaplikasikan. Meskipun tidak ada satu sekuen spesifik penanda (*barcode*) yang relatif cocok dan direkomendasikan sebagai standar untuk DNA barcoding genus *Syzygium*. Namun demikian, ada beberapa kandidat sekuen yang menjanjikan, seperti yang disebutkan di atas yang telah terbukti bermanfaat dalam beberapa kondisi.

Kata kunci: DNA barcoding; gen penanda; Myrtaceae; *Syzygium*

PENDAHULUAN

Myrtaceae adalah famili tumbuhan yang memiliki 5.671 spesies, 132 genus, 17 subgenus (WCSP, 2021). Distribusi penyebaran Myrtaceae terbentang dari Asia Tenggara,

Australia, Amerika Selatan (Oliveira-Filho & Fontes, 2000; Vasconcelos *et al.*, 2017). Selain itu juga ditemukan di Afrika dan Eropa (Vasconcelos *et al.*, 2017). Salah satu genus terbesar dari Myrtaceae adalah *Syzygium*.

Syzygium memiliki sekitar 1.200-1.800 spesies. Akan tetapi, secara taksonomi, penamaan spesies dari *Syzygium* ini hanya diketahui sebanyak 1.123 spesies (81,7%) dan sebanyak 240 (17,5%) merupakan sinonim dari nama *accepted* spesiesnya (Tuiwawa *et al.*, 2013). Berdasarkan daftar tumbuhan (*Plant List*), paling sedikit terdapat 1.374 spesies pada *Syzygium* (Tallei *et al.*, 2016). *Syzygium* memiliki persebaran yang luas dengan spesies *native* (asli) berada di Afrika, Madagaskar, Asia, daerah Oseania dan Pasifik (Ahmad *et al.*, 2016). Menurut Asif *et al.*, (2013), *Syzygium* merupakan tumbuhan utama flora hutan hujan tropis di daerah Malesia. Di Indonesia, *Syzygium* ditemukan sekitar 300 spesies, seperlamanya ditemukan di pulau Jawa (Sunarti, 2015). Banyak anggota dari genus ini memiliki nilai ekonomis dan telah digunakan sebagai obat-obatan, makanan, bahan bangunan, dan tanaman hias (Ahmad *et al.*, 2019; de Paulo Farias *et al.*, 2020), penghasil senyawa bio-aktif (de Araujo *et al.*, 2019) dan beberapa di antaranya dapat dibudidayakan untuk diambil buahnya (Tuiwawa *et al.*, 2013; Martiansyah *et al.*, 2021).

Syzygium merupakan genus yang sulit untuk diklasifikasikan akibat karakter morfologi yang relatif sedikit meskipun secara konsisten menghubungkan suatu spesies ke dalam kelompok spesies tertentu dengan baik (Widodo, 2012; Roslim & Fitriani, 2021). Hal ini juga didukung dengan tumpang tindihnya nama *Syzygium* dan *Eugenia* sehingga terjadi revisi besar-besaran pada genus *Eugenia* menjadi *Syzygium* (Biffin, 2005; Widodo, 2010). Identifikasi spesies dari genus *Syzygium* secara akurat menggunakan metode konvensional dengan morfologi relatif sulit dan dapat memakan waktu yang lama (Zhao *et al.*, 2015; Mudiana & Ariyanti, 2020). Hal ini dapat disebabkan kurangnya pengetahuan mengenai tumbuhan dan/atau kurangnya karakter bunga dan buah yang dibutuhkan untuk identifikasi (Colpaert *et al.*, 2005; Mudiana & Ariyanti, 2020). Identifikasi spesies berbasis sekuen DNA pendek (*barcode*) merupakan metode yang dianggap cepat, dapat dipertanggungjawabkan, dan konsisten,

sehingga sangat dibutuhkan untuk percepatan identifikasi spesies dari suatu organisme khususnya *Syzygium* (Tallei *et al.*, 2016; Irawan *et al.*, 2018; Roslim & Fitriani, 2021).

KETERBATASAN IDENTIFIKASI KONVENSIONAL

Proses identifikasi spesies secara konvensional menggunakan karakterisasi morfologi memiliki berbagai keterbatasan (Zhao *et al.* 2015; Waldchen *et al.*, 2018). Pertama, ciri fenotipik dan variasi genetik bisa menyebabkan kesalahan identifikasi. Kedua, masih banyak taksa yang belum jelas/samar (Knowlton, 1993). Ketiga, kunci morfologi hanya efektif di suatu tahap perkembangan tanaman saja, sehingga banyak individu yang belum dapat diidentifikasi. Keempat, penggunaan kunci identifikasi sering kali memerlukan tingkat keahlian tertentu, sehingga bisa saja terjadi kesalahan pada saat proses identifikasi. Kelima membutuhkan waktu yang lama (Zhao *et al.*, 2015; Kowalska *et al.*, 2018; Waldchen *et al.*, 2018).

Salah satu penanda molekuler yang saat ini digunakan dalam mengungkapkan taksonomi yaitu penanda DNA (*DNA barcode*) yang merupakan sekuen pendek DNA yang dapat menunjukkan variasi genetik dalam suatu spesies (Hebert, 2003; DeSalle & Goldstein 2019). DNA barcoding diperlukan untuk memecahkan keterbatasan dari proses identifikasi spesies secara konvensional (Waldchen *et al.*, 2018). Akan tetapi, tidak berarti taksonomi konvensional menjadi tidak penting, sebaliknya DNA barcoding telah menjadi pendekatan (*tools*) baru seorang ahli taksonomi untuk melengkapi pengetahuan dalam proses identifikasi dengan cepat. Menggabungkan sekuen DNA dengan karakter morfologi yang ada dapat memfasilitasi identifikasi dan klasifikasi spesies (Kowalska *et al.*, 2018; Waldchen *et al.*, 2018).

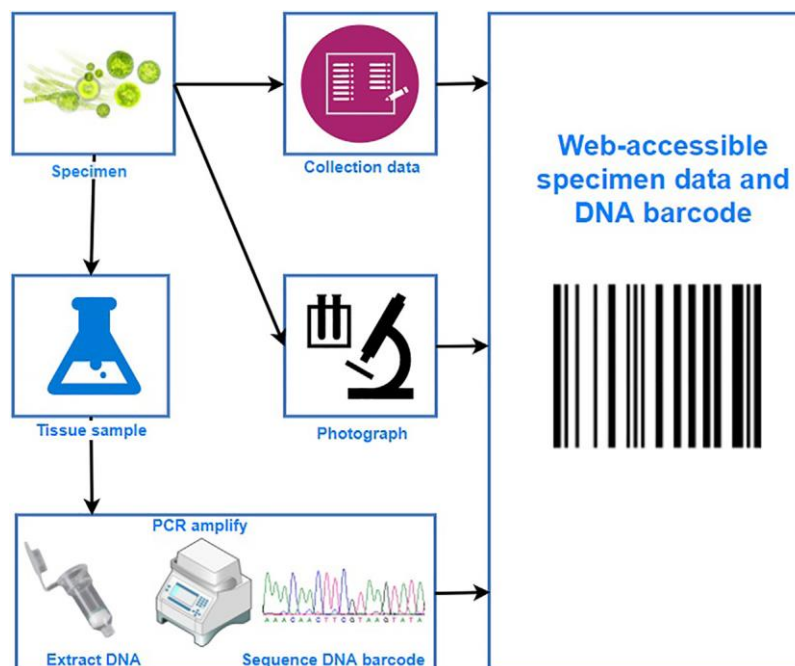
APA ITU DNA BARCODING?

Pada tahun 2003, Hebert mengusulkan sebuah pendekatan baru untuk mengidentifikasi spesies dari suatu organisme yang disebut 'DNA barcoding'. Pendekatan ini memerlukan

sebuah sekuen genetik pendek yang menjadi standar dari genom suatu organisme. DNA barcoding dapat membedakan organisme berdasarkan daerah spesifik dari DNA genom. Awalnya pendekatan ini dirancang sebagai alat untuk mengidentifikasi mikroorganisme. Pendekatan ini berkembang pesat untuk hewan, untuk itu satu fragmen gen, mitokondria sitokrom oksidasi I (COI), terbukti menjadi penanda yang andal di garis keturunan penting (Hebert *et al.*, 2003).

DNA barcoding adalah teknik untuk identifikasi taksonomi menggunakan satu atau beberapa daerah DNA standar yang secara universal ada dalam garis keturunan target dan memiliki cukup variasi urutan untuk mengenali spesies dan mengidentifikasi individu dengan benar (Hebert *et al.* 2003; Kress *et al.* 2005).

DNA barcoding merupakan salah satu metode taksonomi yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu organisme dengan penanda genetik tertentu sehingga mengacu pada satu penamaan spesies (Lima *et al.*, 2018; DeSalle & Goldstein 2019). Melalui metode ini, sampel DNA yang belum diketahui dapat diidentifikasi menjadi nama spesies teregistrasi dibandingkan dengan pustaka referensi (Gambar 1). Untuk memilih *barcode* universal untuk tumbuhan, berbagai penanda molekuler telah dikenal, termasuk daerah *cpDNA* seperti *matK*, *rbcL* (Hilu & Liang, 1997; CBOL 2009). Daerah-daerah tersebut dipilih berdasarkan tiga kriteria utama: (a) universalitas, (b) kualitas sekuen, dan (c) diskriminatif (CBOL 2009; Hollingsworth 2011).



Gambar 1. Proses identifikasi spesies dengan pendekatan DNA barcoding (Kowalska *et al.*, 2018).

CBOL merekomendasikan penargetan dua lokus dalam genom kloroplas untuk DNA barcoding yaitu *ribulosa-bisphosphate carboxylase (rbcL)* gen dan gen *matK*. Penanda kloroplastik *rbcL* dan *matK* adalah penanda pertama DNA barcoding untuk tanaman (CBOL 2009), lalu selanjutnya digunakan pula daerah ITS dan *psbA-trnH* sebagai DNA barcoding inti (Gonzalez *et al.*, 2009; Hollingsworth, 2011). *rbcL* diketahui memiliki

beberapa kelemahan bila dibandingkan dengan *matK* (Dunning & Savolainen, 2010; Hollingsworth *et al.*, 2011). Sebaliknya, ITS dari genom inti banyak digunakan dalam taksonomi dan filogeni molekuler karena mudah diamplifikasi dan memiliki derajat variasi tinggi bahkan antara spesies terkait erat (Hollingsworth *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011). Secara khusus, ITS 2 telah memperoleh pengakuan dalam DNA barcoding karena

memiliki kemampuan membedakan spesies hingga tingkat keberhasilan 92,7 persen pada tanaman (Chen *et al.*, 2010; Buys *et al.*, 2016).

Pendekatan genomik untuk taksonomi menggunakan perbedaan dalam sekuen DNA untuk mengenali suatu organisme (Kurtzman, 1994). Proses DNA barcoding mencakup dua langkah dasar: 1) membangun perpustakaan data *DNA barcode* spesies yang diketahui dan 2) mencocokkan sekuen *barcode* sampel yang tidak diketahui dengan penanda pustaka (*barcode library*) untuk identifikasi. Terdapat beberapa syarat untuk memilih penanda DNA yang sesuai yaitu, rendahnya variasi intra-spesifik (kurang dari 2%) dan tingginya variabilitas di antara spesies (Kowalska *et al.*, 2018). Selain itu, penanda harus berlaku universal atau dengan kata lain dapat digunakan di taksa yang berbeda-beda dan memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi DNA yang tinggi (Hollingsworth, 2011). Terkait dengan proses sekuensing metode Sanger, penanda DNA barcoding yang digunakan harus pendek untuk sekali pembacaan proses sekuensing (<700 pb) (Kowalska *et al.*, 2018).

Penanda (*barcode*) yang baik harus mengandung sejumlah kecil mutasi insersi (sisipan) dan atau delesi (penghapusan). Mutasi ini dapat menghambat penyelarasan (*alignment*) sekuen yang dari organisme yang berbeda sehingga substitusi nukleotida lebih disukai (Hollingsworth 2011). Namun, Kress & Erickson, (2007) menolak persyaratan ini dengan menyatakan bahwa DNA barcoding dimaksudkan untuk identifikasi spesies, bukan untuk analisis filogenetik. Setiap mutasi, apakah itu penyisipan atau penghapusan atau substitusi, adalah fitur dari organisme, dan sama baiknya jika memungkinkan untuk identifikasi (Combik & Mirek, 2015). Lebih lanjut, penanda yang ideal harus terdiri dari daerah yang sangat bervariasi yang menyediakan informasi yang cukup untuk bisa membedakan spesies, dan tersebar pada daerah yang lestari sehingga memungkinkan desain primer universal serta standarisasi DNA barcoding (Kowalska *et al.*, 2018)

Saat ini, DNA barcoding secara rutin digunakan di kehidupan dan berfungsi sebagai

satu kesatuan dan metodologi standar dalam studi keanekaragaman hayati (Krishnamurthy & Francis 2012). Nilai penting dari *barcode* sebagai alat identifikasi sudah banyak diketahui: banyak spesies akan tetap tidak teridentifikasi dan tersembunyi tanpa penemuan teknik DNA barcoding (Grant *et al.*, 2021). DNA barcoding telah terbukti menjadi alat penting untuk identifikasi spesies dan sebagai pelengkap taksonomi berbasis morfologi tradisional (Waldchen *et al.*, 2018; Grant *et al.*, 2021). DNA barcoding sebagai pendekatan molekuler telah digunakan selama kurang dari satu dekade, dan teknik ini telah tumbuh secara eksponensial yang dicirikan dengan peningkatan jumlah sekuen DNA yang dihasilkan (Kress & Erickson 2012; Kowalska *et al.*, 2018). DeSalle & Goldstein (2019) melaporkan bahwa penelitian dan analisis praktis pendekatan molekuler DNA barcoding telah mengalami peningkatan sejak tahun 2004 hingga 2018 yang ditandai dengan terbitnya 3.756 artikel.

STUDI KASUS: PENGGUNAAN BARCODE PADA GENUS SYZYGIUM

Dalam proses DNA barcoding, gen tertentu dapat digunakan sebagai marker dalam pembagian genetik spesies dan rekonstruksi filogenetik. Gen-gen penanda seperti *rbcL* dan *matK* (plastida) serta *internal transcribed spacer* (ITS) (nukleus) telah banyak digunakan untuk dalam proses identifikasi yang dikombinasikan dengan identifikasi konvensional melalui morfologi. Daerah genom yang berbeda perlu diurutkan (*sequencing*) untuk mengidentifikasi spesies tanaman dengan baik (Chase *et al.*, 2007). Identifikasi spesies dan analisis filogenetik yang terdapat dalam famili Myrtaceae, khususnya genus *Syzygium*, melalui pendekatan DNA barcoding memerlukan satu/beberapa gen penanda yang tepat. Untuk selanjutnya akan dipaparkan beberapa penelitian terkait DNA barcoding dan penggunaannya untuk identifikasi dan analisis filogenetik pada *Syzygium*.

Buys *et al.* (2016), melakukan penelitian terhadap 43 genus dari Myrtaceae dengan menggunakan tiga penanda yaitu *matK*,

ITS dan ETS. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa tingkat keberhasilan gen penanda ITS rata-rata lebih tinggi di spesies di mana nilai tingkat keberhasilan *matK* sebesar 100 persen. Tingkat kesuksesan identifikasi *Metrosideros* dan *Syzygium* lebih rendah menggunakan ITS dibandingkan dengan *matK* tetapi jauh lebih tinggi daripada ETS (Tabel 1). Gen *matK*

(Maturase K), yang merupakan gen kloroplas berukuran sekitar 1500 pasang basa ((Dunning & Savolainen, 2010). Gen *matK* memiliki laju substitusi yang tinggi dan telah digunakan mengamati keanekaragaman genetik intraspecies dan interspecies (Hollingsworth *et al.*, 2011).

Tabel 1. Efisiensi identifikasi (%) dari tiga lokus per genus dari Myrtaceae

Genus	matK			ITS			ETS		
	No. of species	No. of samples	Success rate at the species level (%)	No. of species	No. of samples	Success rate at the species level (%)	No. of species	No. of samples	Success rate at the species level (%)
<i>Acca</i>	1	4	100	1	4	100			
<i>Agonis</i>	1	4	100	1	4	100			
<i>Amomyrtus</i>	1	2	100	2	4	100			
<i>Angophora</i>	3	8	67	3	8	100	2	6	100
<i>Astartea</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Backhousia</i>	1	3	100	1	3	100	1	2	100
<i>Baeckea</i>	1	2	100	1	1	100			
<i>Beaufortia</i>	1	4	100	1	4	100			
<i>Blepharocalyx</i>	-	-	-	1	3	100			
<i>Callistemon</i>	4	15	75	4	18	75	1	2	100
<i>Calothamnus</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Calytrix</i>	1	3	100	1	2	100			
<i>Carpolepis</i>	1	1	100	1	1	100			
<i>Chamelaucium</i>	3	7	100	1	3	100			
<i>Corymbia</i>	4	15	100	4	13	100	4	16	75
<i>Darwinia</i>	2	4	100	2	4	100			
<i>Eucalyptus</i>	27	96	22	26	105	50	28	87	32
<i>Eugenia</i>	1	5	100	1	5	100			
<i>Heteropyxis</i>	1	5	100	1	2	100			
<i>Hypocalymma</i>	1	4	100	1	4	100			
<i>Kunzea</i>	5	15	20	4	19	50			
<i>Leptospermum</i>	5	18	80	5	21	100	1	1	100
<i>Lophomyrtus</i>	2	7	100	2	6	100	1	1	100
<i>Lophostemon</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Luma</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Melaleuca</i>	7	19	100	6	19	100			
<i>Metrosideros</i>	14	52	86	14	62	79	14	61	100
<i>Micromyrtus</i>	1	4	100	1	1	100			
<i>Myrciaria</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Myrteola</i>	1	1	100	1	1	100			
<i>Myrtus</i>	1	4	100	1	12	100			
<i>Neomyrtus</i>	1	3	100	1	5	100			
<i>Pimenta</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Psidium</i>	1	4	100	1	4	100	1	2	100
<i>Sannantha</i>	1	3	100	1	2	100			
<i>Syncarpia</i>	1	3	100	1	2	100			
<i>Syzygium</i>	6	22	100	6	19	83	1	1	100
<i>Taxandria</i>	3	9	33	4	12	100			
<i>Thaleropia</i>	1	3	100	1	2	100			
<i>Thryptomene</i>	1	3	100	1	4	100			
<i>Tristaniopsis</i>	1	4	100	1	3	100			
<i>Ugni</i>	1	3	100	1	3	100			
<i>Xanthostemon</i>	1	3	100	1	4	100			

Calculations based on a subset of sequences provided in Supplementary Tables S1 - S4 due to partial sequences and sequences with ambiguous bases being excluded.

Sumber: Buys *et al.*, 2016

Irawan *et al.* (2016) melaporkan penggunaan sekuen gen *matK* pada beberapa tumbuhan *Syzygium* di Sulawesi Utara, yaitu pakoba, jamblang dan bombongan. Pada

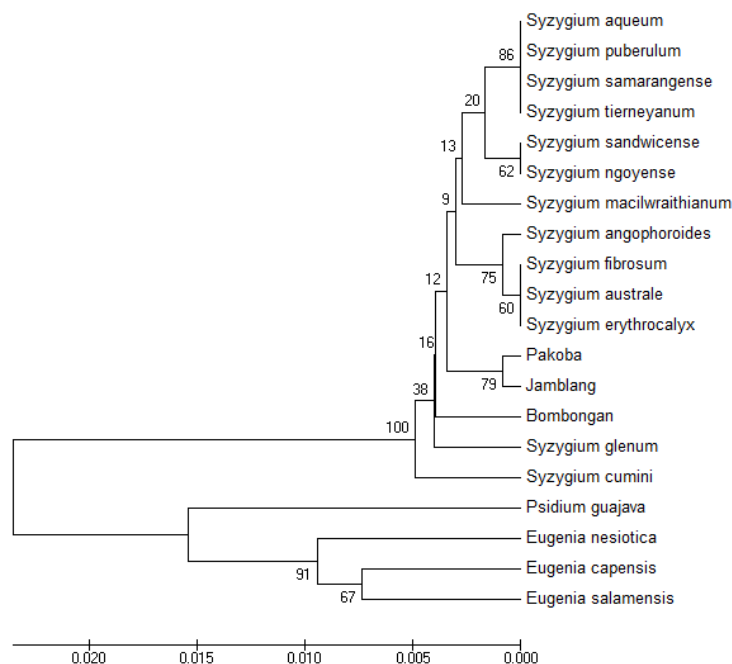
penelitiannya Irawan *et al.* (2016) melakukan analisis penjajaran (*alignment*) dengan platform online MultAlin dan mengkonstruksi pohon filogenetik menggunakan program

MEGA 6. Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan model UPGMA dan jarak genetik dengan parameter Kimura-2. Adapun spesies *Psidium guajava* digunakan sebagai *outgroup* dan beberapa sekuen dari spesies *Eugenia* dijadikan sebagai pembanding. Menurutnya penggunaan pembanding ini penting untuk memperjelas hubungan dengan *Syzygium* karena diketahui penamaan spesies keduanya saling tumpang tindih.

Hasil analisis penjajaran menunjukkan bahwa terdapat perbedaan basa nukleotida antara pakoba dan jamblang. Sementara itu terdapat perbedaan 5-6 nukleotida antara bombongan, jamblang dan pakoba. Variasi juga ditunjukkan antara sekuen sampel tumbuhan *Syzygium* dengan sekuen kerabat yang diperoleh dari basis data dengan spesies kerabat terdekat dan spesies kerabat terjauh. Selain itu, Irawan *et al.*, (2016) menghitung juga jarak genetik menggunakan metode Kimura-2-Parameter pada MEGA 6. Hasil menunjukkan jarak genetik antara pakoba dan jamblang yaitu 0,002. Menurut Tallei *et al.* (2016), semakin sedikit nilai jarak genetik antara dua organisme, semakin dekat pula hubungan kekerabatan keduanya. Hasil tersebut menandakan bahwa kemungkinan besar tumbuhan pakoba dan

jamblang berkerabat dekat, dan bahkan cenderung sebagai spesies yang sama atau merupakan subspecies. Jarak genetik antara jamblang dengan *Syzygium cumini* yaitu 0,010. Nilai ini jauh lebih besar dibandingkan nilai antara pakoba dan jamblang. Nilai jarak genetik antara bombongan dengan *Syzygium* lainnya yang diperoleh dari bank gen berkisar antara 0,005-0,010. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik memperlihatkan bahwa posisi jamblang dengan pakoba terletak pada satu klaster yang diduga berarti bahwa keduanya berkerabat dekat. Akan tetapi, posisi *Syzygium cumini* (DQ088575) berada pada klaster yang berbeda, sehingga jamblang tampaknya memiliki kekerabatan yang jauh dari *S. cumini* tersebut (Gambar 2).

Kesimpulan dari penelitian Irawan *et al.* (2016) adalah hubungan kekerabatan antara *Eugenia* dengan *Syzygium* relatif jauh berdasarkan pohon filogenetik. Selain itu, kemampuan gen *matK* untuk memisahkan hingga tingkat jenis pada genus *Syzygium* relatif rendah sehingga kurang direkomendasikan menjadi *barcode*. Menurutnya hanya sedikit daerah di genom yang cocok digunakan dalam *DNA barcode*.



Gambar 2. Pohon filogenetik *Syzygium* yang dikonstruksi menggunakan metode UPGMA dengan MEGA 6 (Irawan *et al.*, 2016)

Penelitian lain memperlihatkan penggunaan gen ITS untuk merekonstruksi pohon filogenetik *Syzygium* dan membandingkannya dengan karakterisasi morfologi. Yulisma *et al.* (2018), melaporkan penelitiannya tentang hubungan filogenetik di antara spesies dalam keluarga Myrtaceae di hutan rawa gambut Tripa (TPSF). Gen penanda daerah ITS berhasil mengelompokkan spesies yang berasal dari hutan rawa gambut Tripa dengan spesies dari bank Gen ke dalam klaster (*clade*) yang sama sehingga disinyalir *Syzygium* sp. 1 (TPSF) bersama dengan *S. australe* dan *S. samarangense* berasal dari satu kesamaan leluhur. Sejalan dengan *S. garciniifolium* (TPSF), spesies ini juga membentuk kelompok monofiletik bersama dengan empat spesies lainnya. Klaster adalah bagian dari filogeni yang mencakup tetua dan semua keturunannya. Berdasarkan morfologi, *Syzygium* sp. 1 dan *S. australe* adalah dua spesies yang berbeda. *Syzygium* sp. 1 berasal dari spesies yang tumbuh di hutan rawa gambut. Di sisi lain, *S. australe* adalah tanaman biasa hutan hujan pesisir di dataran tinggi yang dapat tumbuh lebih dari 25 meter. Berdasarkan pengamatan morfologi, daun *S. australe* saling berlawanan, berbentuk bulat dan berwarna hijau cerah sehingga disinyalir bukan jenis dari *Syzygium* sp. 1 yang diteliti. Akan tetapi, menurut hasil DNA barcoding, *Syzygium* sp 1 ditempatkan sebagai satu kelompok dekat dengan *S. australe*.

Roslim, (2019) melaporkan penggunaan tiga *barcode* yaitu *matK*, *rbcL*, dan *trnL-trnF intergenic spacer* untuk identifikasi buah bernama lokal durik-durik yang diduga merupakan salah satu spesies *Syzygium* sp. Hasil analisis filogenetik pada *matK* menunjukkan bahwa *Syzygium* sp. membentuk kelompok yang mirip dengan sesama anggota genus *Syzygium* pada klaster 1 dan terpisah dari klaster luar (*outgroup*). Selain itu, *Syzygium* sp. tersebut terlihat memiliki hubungan genetik yang lebih dekat dengan *S. tenuiflorum*. Pada *rbcL* terlihat bahwa *Syzygium* sp. berada dalam satu klaster dengan sesama anggota genus *Syzygium*. Sejalan dengan kedua penanda sebelumnya, *trnL-trnF intergenic spacer*

menunjukkan pola pengelompokan yang sama dengan *matK* dan *rbcL*. Dengan kata lain, *Syzygium* sp. membentuk kelompok yang mirip dengan spesies yang sama dari genus *Syzygium* dan terpisah dari *outgroup* di famili Myrtaceae. Kesimpulan penelitian Roslim, (2019) menunjukkan bahwa *Syzygium* sp. berhubungan erat dengan spesies dari genus *Syzygium* tetapi tidak ada spesies dari genus *Syzygium* yang 100% mirip dengan durik-durik. Namun, hasil penelitiannya menegaskan bahwa durik-durik adalah anggota genus *Syzygium*. Selain ketiga penanda tersebut, identifikasi *Syzygium* sp. juga dicoba dengan menggunakan gen penanda lain seperti *psbA-trnH intergenic spacer* dan *ndhF* (Roslim *et al.*, 2016; Roslim & Fitriani, 2021)

KESIMPULAN

Pengembangan teknologi DNA barcoding telah membantu meningkatkan efektivitas dan efisiensi penelitian taksonomi tumbuhan. Metode ini telah mendorong peranan molekuler untuk secara langsung terlibat dalam proses identifikasi spesies, keragaman genetik dan analisis filogenetik suatu organisme. Namun, penggunaan *DNA barcode* sebagai gen penanda untuk suatu organisme tidak menjamin identifikasi yang tepat di tingkat spesies. Pada beberapa genus, identifikasi spesies tidak dapat diselesaikan hanya dengan menggunakan satu jenis gen penanda. Beberapa taksa memerlukan kombinasi dua atau lebih gen penanda untuk menjamin identifikasi yang akurat. Pada famili Myrtaceae, khususnya genus *Syzygium*, gen penanda daerah *internal transcribed spacer* (ITS), ETS, *trnL-trnF intergenic spacer*, *psbA-trnH intergenic spacer*, *matK*, *rbcL*, dan *ndhF* telah berhasil diaplikasikan. Meskipun tidak ada satu sekuen spesifik *barcode* yang relatif cocok dan direkomendasikan sebagai standar untuk DNA barcoding karena setiap famili, genus bahkan spesies memiliki keunikan masing-masing. Namun demikian, beberapa kandidat sekuen yang menjanjikan, seperti yang telah dipaparkan dalam ulasan ini, telah terbukti bermanfaat sebagai gen penanda

(barcode) untuk penelitian di masa kini dan masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, B., Baider, C., Bernardini, B., Biffin, E., Brambach, F., Burslem, D., ... & Wilson, P. G. 2016. *Syzygium* (Myrtaceae): *Monographing a taxonomic giant via 22 coordinated regional revisions* (No. e1930v1). *PeerJ Preprints*.
- Ahmad, N., Nawab, M., & Kazmi, M. H. 2019. Medicinal potential of jamun (*Syzygium cumini* Linn): A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. vol. 9(5): 175-180.
- Asif, H, Khan A., Iqbal A., Khan I. A., & Heinze B. 2013. The chloroplast genome sequence of *Syzygium cumini* (L.) and ITS relationship with other Angiospermae. *Tree Genetics & Genomics*. vol 9(3): 867-877.
- Biffin, E. 2005. Sorting out the confusion: Phylogenetics of large genera and the lessons from *Syzygium* (Myrtaceae). *Austral. Biol. Resources Study. Biologue*. vol. 30. CSIRO Plant Industry, Canberra.
- Buys, M. H., Flint, H. J., Miller, E. M., Yao, H., Caird, A. R., & Ganley, R. J. 2016. Preparing for the invasion: efficacy of DNA barcoding to discern the host range of myrtle rust (*Puccinia psidii*) among species of Myrtaceae. *Forestry*. vol. 89(3): 263-270.
- CBOL Plant Working Group. 2009. A Barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. vol. 106: 12794–12797.
- Chase, M.W., Cowan, R.S., Hollingsworth, P.M., van den Berg, C., Madrin S. 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon*. vol. 56 (2), 295–299.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L. *et al.* 2010 Validation of the ITS2 region as a novel Barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS One*. vol. 5(1): 1-8.
- Colpaert, N., Cavers, S., Bandou, E., Caron, H., Gheysen, G., & Lowe, A.J. 2005. Sampling tissue for DNA analysis of trees: trunk cambium as an alternative to canopy leaves. *Silvae Genetica*. vol. 54(6): 265–269.
- Combik, M., & Mirek, Z. 2015. Estimating the effectiveness of species identification by sequencing of two chloroplast DNA loci (*matK* and *rbcL*) in selected groups of Polish flora. *DNA*. vol. 3: 17-26.
- de Araujo, F. F., Neri-Numa, I. A., de Paulo Farias, D., da Cunha, G. R. M. C., & Pastore, G. M. 2019. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. *Food research international*. vol. 121: 57-72.
- de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., de Araujo, F. F., & Pastore, G. M. 2020. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food chemistry*. vol. 306: 1-17.
- DeSalle, R., & Goldstein P. 2019. Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*. vol. 7: 1-11.
- Dunning, L.T., & Savolainen V. 2010. Broad-scale amplification of *matK* for DNA barcoding plants, a technical note. *Botanical Journal of the Linnean Society*. vol. 164: 1–9.
- Gonzalez, M. A., Baraloto, C., Engel, J., Mori, S. A., Pétronelli, P., Riéra, B., ... & Chave, J. 2009. Identification of Amazonian trees with *Barcodes*. *PLoS one*. vol. 4(10): 1-7.
- Grant, D. M., Brodnicke, O. B., Evankow, A. M., Ferreira, A. O., Fontes, J. T., Hansen, A. K., ... & Ekrem, T. 2021. The future of DNA barcoding: reflections from early career researchers. *Diversity*. vol. 13: 1-11.
- Hebert, P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., & DeWaard J.R. 2003. Biological identifications through *Barcodes*. *Proc Roy Soc B Bio*. vol. 270: 313–321.
- Hilu, K.W., Liang H. 1997. The *matK* gene: sequence variation and application in plant systematics. *American Journal of Botany*. vol. 84: 830–839.
- Hollingsworth, P.M. 2011. Refining the Barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 108 (49): 19451–19452. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116812108> PMID: 22109553.
- Irawan, P. D., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. 2016. Analisis sekuens dan filogenetik beberapa tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara berdasarkan Gen *matK*. *Jurnal Ilmiah Sains*. vol. 16(2): 43-50.
- Knowlton, N., Weigt, L. A., Solorzano, L. A., Mills, D. K., & Bermingham, E. 1993. Divergence in proteins, mitochondrial DNA, and reproductive compatibility across the Isthmus of Panama. *Science*. vol. 260(5114): 1629-1632.
- Kowalska, Z., Pniewski, F., & Latała, A. 2019. DNA barcoding—A new device in phycologist's toolbox. *Ecology & Hydrobiology*. vol.19(3): 417-427.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. 2012. DNA barcodes: methods and protocols. In *DNA Barcodes*. Totowa: Humana Press.
- Kress, W.J., & Erickson, D.L. 2007. A two-locus global Barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLOS One*. vol. 6 (e508): 1–10.
- Kress, W.J., Wurdack K.J., Zimmer E.A., Weigt L.A., & Janzen D.H. 2005. Use of barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 102: 8369–8374.
- Krishnamurthy, P.K., Francis, R.A. 2012. A critical review on the utility of DNA barcoding in

- biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*. vol. 21(8): 1901–1919.
- Kurtzman, C. P. 1994. Molecular taxonomy of the yeasts. *Yeast*. 10(13): 1727-1740.
- Li, D.Z., Gao, L.M., Li, H.T., Wang, H., Ge, X.J., Liu, J.Q. *et al.* 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that *internal transcribed spacer* (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. vol. 108: 19641–19646.
- Lima, R. A., Oliveira, A. A. D., Colletta, G. D., Flores, T. B., Coelho, R. L. G., Dias, P., ... & Chave, J. 2018. Can plant DNA barcoding be implemented in species-rich tropical regions? A perspective from São Paulo State, Brazil. *Genetics and molecular biology*. vol. 41(3): 661-670.
- Martiansyah, I., Hariri, M. R., Mulyani, M., Husaini, I. P. A., Hidayat, A., & Rahmawati, S. 2021. Consumer Preference Study on Myrtaceae Fruit Collection of Bogor Botanic Gardens. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. vol. 10(1): 41-49.
- Mudiana, D., & Ariyanti, E. E. 2020. Karakterisasi Morfologi Juwet (*Syzygium cumini* [L.] Skeels.) di Kebun Raya Purwodadi. *Buletin Plasma Nutfah*. vol. 26(1): 11-20.
- Oliveira-Filho, A. T., & Fontes, M. A. L. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica*. vol. 32(4b): 793-810.
- Roslim, D. I. 2019. Analysis of *matK*, *rbcL* and *trnL-trnF* intergenic spacer sequences on durik-durik (*Syzygium* sp). *J. Phys.: Conf. Ser.* vol. 1351: 1-9.
- Roslim, D. I., & Fitriani, A. (2021). Barkoding DNA pada tumbuhan durik-durik (*Syzygium* sp.) asal Riau menggunakan daerah gen *ndhF*. *Jurnal Bios Logos*. vol. 11(1): 41-46.
- Roslim, D. I., Nurkhairani P., Herman & Elvyra R. 2016. Identification of durik-durik plant (*Syzygium* sp) using the *psbA-trnH* intergenic spacer and ITS regions. *TPGM*. vol. 3: 11-16.
- Tallei, T.E., Irawan P.D., & Kolondam B.J. 2016. DNA barcoding analysis of *matK* gene of some *Syzygium* species. Bioinformatics Workshop 2016: Developing knowledge and skill in bioinformatics for Young Indonesian Scientists in improving research quality in life science and sustainable exploration of biodiversity in Indonesia. Al Azhar University Jakarta, 13 – 15 September 2016.
- Tuiwawa, S. H., Craven, L. A., Sam, C., & Crisp, M. D. 2013. The genus *Syzygium* (Myrtaceae) in Vanuatu. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*. vol. 58(1): 53-67.
- Vasconcelos, T. N., Proença, C. E., Ahmad, B., Aguilar, D. S., Aguilar, R., Amorim, B. S., ... & Lucas, E. J. 2017. Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. *Molecular phylogenetics and evolution*. vol. 109: 113-137.
- Waldchen J., Rzanny M., Seeland M., & Mäder P. 2018. Automated plant species identification—Trends and future directions. *PLoS Comput Biol*. vol. 14(4): 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005993>.
- WCSP. 2021 [continuously updated]) World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Available from: <http://wcsp.science.kew.org/> (diakses tanggal 14 September 2021).
- Widodo, P. 2010. Enumeration of Sumatran *Syzygium* (Myrtaceae). [Disertasi]. Bogor: *IPB University*.
- Widodo, P. 2012. New nomenclature in *Syzygium* (Myrtaceae) from Indonesia and its vicinities. *Reinwardtia*. vol. 13(3): 235-240.
- Yulisma, A., Thomy, Z., & Harnelly, E. 2018. Phylogenetic relationships within families Myrtaceae in tripa peat swamp forest using an *internal transcribed spacer* (ITS). *Jurnal Natural*. vol. 18(2): 65-71.
- Zhao, C., Chan S.S.F., Cham W.K., & Chu L.M. 2015. Plant identification using leaf shapes? A pattern counting approach. *Pattern Recognition*. vol. 48(10):3203–3215.