

DNA Barcoding Pada Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Menggunakan Gen *trnL-F*

Nazlil Khaira MS (1), Efrida Pima Sari Tambunan (2), Zahratul Idami (3)

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara
Jl. Lap. Golf, Desa Durian Jagak, Kec. Pancur Batu, Kab. Deli Serdang,
Sumatera Utara 20353, Indonesia

Nazlykhayraa13@gmail.com (1) efrida_pima@uinsu.ac.id (2) zahratulidami@uinsu.ac.id (3)

ABSTRAK

DNA *barcoding* merupakan satu atau lebih sekuen gen pendek yang diambil dari bagian genom standart dan digunakan untuk mengidentifikasi spesies. Tumbuhan harimonting merupakan tumbuhan liar, tetapi di beberapa tempat tumbuhan ini dijadikan sebagai tanaman hias. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik molekuler gen *trnL-F* pada tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*, keragaman genetic, dan hubungan filogenetik *Rhodomyrtus tomentosa* dengan menggunakan gen *trnL-F*. Metode penelitian ini dilakukan dengan tahapan: pengoleksian sampel, isolasi DNA, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), elektroforesis, sekuensing dan analisis hasil sekuens. Karakterisasi molekuler tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* yang dikoleksi dari Bukit Tara Bunga dilihat dari hasil DNA *barcoding* dan pengamatan karakter morfologi yang terlihat dan studi literatur. Hasil *barcode* DNA tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* dari hasil analisis molekuler *Rhodomyrtus tomentosa* didapat hasil sekuens sepanjang 359 bp. Sekuens tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* dianalisis menggunakan aplikasi MEGA 11 . Dilakukan perhitungan jarak genetic (*pairwise distance*), perhitungan *GC content*, dan keragaman nukleotida. Perhitungan *GC content* menunjukan nilai *GC content* pada tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* lebih rendah dibandingkan dengan *AT content* yang mengindikasi spesies *Rhodomyrtus tomentosa* sifatnya lebih primitif. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik, seluruh spesies terbagi menjadi 2 klad.

Kata Kunci : DNA Barcoding, *Rhodomyrtus tomentosa*, gen *trnL-F*.

ABSTRACT

DNA Barcoding is one or more short gene sequences taken from a standard part of the genome and used to identify species. Harimonting plant is a wild plant, but in some places this plant is used as an ornamental plant. This study aims to determine the molecular characteristics of the *trnL-F* gene in *Rhodomyrtus tomentosa*, to determine the genetic diversity of *Rhodomyrtus tomentosa* using the *trnL-F* gene, and to examine the phylogenetic relationships of *Rhodomyrtus tomentosa* using the *trnL-F* gene. This research method was carried out in stages: sample collection, DNA isolation, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), electrophoresis, sequencing and analysis of sequence results. Morphological characterization of *Rhodomyrtus tomentosa* plants collected from Tara Bunga Hill was seen from the results of DNA barcodes and observations of visible morphological characters and literature studies. The results of the *Rhodomyrtus tomentosa* DNA barcode from the results of molecular analysis of *Rhodomyrtus tomentosa* obtained the results of a sequence of 359 bp. The plant sequences of *Rhodomyrtus tomentosa* were analyzed using the MEGA 11 application. Genetic distance calculation (*pairwise distance*), *GC content* calculation, and nucleotide diversity were performed. Calculation of *GC content* showed that the value of *GC content* in *Rhodomyrtus tomentosa* was lower than *AT content* which indicated that *Rhodomyrtus tomentosa* species were more primitive. Based on the phylogenetic tree reconstruction, all species are divided into 2 clades.

Keywords: DNA Barcoding, *Rhodomyrtus tomentosa*, *trnL-F* gene

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Rhodomyrtus tomentosa merupakan tumbuhan yang terdapat di berbagai negara antara lain di Borneo, Cambodia, China, Myanmar, Philippines, Sri Lanka, Thailand, Vietnam, USA dan Indonesia. Di Indonesia *Rhodomyrtus tomentosa* banyak dijumpai di wilayah Batak Toba (Harianja, 2016). *Rhodomyrtus tomentosa* tumbuh pada berbagai habitat dan jenis tanah. Di beberapa tempat tanaman ini digunakan sebagai tanaman hias karena memiliki warna bunga yang menarik. Tetapi di tempat lain, tanaman ini dianggap gulma (tanaman pengganggu) karena pertumbuhannya sangat cepat sehingga mengalahkan vegetasi aslinya (Yuliana *et al.*, 2021). Yenihayati (2018) menyatakan bahwa tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* dapat menyembuhkan penyakit seperti diare, disentri basiler, gangguan pencernaan (dispepsi), diabetes mellitus, hepatitis, leukorea, dan pendarahan. Baru-baru ini *Rhodomyrtus tomentosa* diidentifikasi sebagai salah satu dari 240 spesies tanaman yang terabaikan, kurang dimanfaatkan dan terancam punah. Langkah awal yang dapat dilakukan untuk pelestarian *Rhodomyrtus tomentosa* adalah eksplorasi, karakterisasi berdasarkan morfologi, dan molekuler, serta pengelompokan sesuai karakter (Hamid *et al.*, 2017). Identifikasi molekuler merupakan suatu langkah yang dilakukan dalam upaya pemuliaan tanaman, biologi konservasi, dan aspek ilmu tumbuhan lainnya (Hanifa *et al.*, 2021). DNA *barcoding* merupakan teknik dengan menggunakan satu atau beberapa buah region DNA dengan sekuens pendek untuk mengidentifikasi suatu spesies (Hebert *et al.*, 2003). Teknik DNA *barcoding* digunakan untuk memperoleh DNA murni dengan cara memisahkan DNA dari partikel-partikel lainnya seperti lipid, protein, polisakarida, dan zat lainnya secara mekanik maupun secara kimiawi. Teknologi DNA *barcoding* juga telah dikembangkan untuk identifikasi dan analisis keragaman genetik spesies hewan maupun tumbuhan secara molekuler. Teknik DNA *barcoding* juga dapat digunakan dalam bidang taksonomi dan filogenetik tumbuhan untuk hasil identifikasi tumbuhan yang lebih akurat (Kress & Erickson, 2007). Prinsip dasar dari DNA *barcoding* yaitu identifikasi menggunakan *barcode* yang akan dibandingkan dengan urutan *barcode* yang tidak diketahui dengan pustaka sekuens *barcode* yang telah diketahui identitasnya. Jika hasil dari perbandingan sekuens yang diteliti sesuai pada pustaka, maka spesimen tersebut diidentifikasi sebagai spesimen dari pustaka. Apabila hasil tidak sesuai, maka dapat mengarah pada sekuens baru untuk spesies baru (Ramadany, 2020). Pendataan keragaman jenis tumbuhan harus terus dilakukan untuk mengimbangi hilangnya keragaman. *Barcode* DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi semua tingkatan kehidupan bahkan potongan tubuh yang tidak utuh. DNA *barcoding* pada tumbuhan dimulai dengan proses ekstraksi dan amplifikasi DNA dari gen-gen genom kloroplas maupun genom inti dengan menggunakan satu region atau juga gabungan dari beberapa region *barcode*. Region yang sangat sering digunakan pada tumbuhan dan memiliki prospek untuk *barcoding* adalah *trnL-F* (de Groot *et al.*, 2011) *trnH-psbA* (Zhang *et al.*, 2014) *rbcL*, *matK* (Tehen *et al.*, 2014) dan ITS (S. Chen *et al.*, 2010). Yao (2010) telah meneliti keragaman genetik *R. tomentosa* di Hongkong menggunakan petanda ISSR. Dalam penelitian ini diinvestigasi 300 individu tumbuhan harimonting dari 10 populasi harimonting yang tumbuh alami di Hongkong menggunakan primer 11 ISSR. Dari analisis ini terungkap bahwa terdapat variasi genetik level tinggi pada tingkat spesies. Koefisien keragaman genetik antar populasi relatif tinggi dan aliran genetik relatif rendah dibandingkan dengan spesies luar yang lain. Penelitian tentang karakteristik molekuler dengan teknik DNA *barcoding* tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* masih sangat sedikit di Indonesia. Gen *trnL-F* merupakan gen kloroplas yang informatif dan mampu menunjukkan hubungan antar jenis. Gen *trnL-F* ini sangat cocok digunakan dalam identifikasi hingga tingkatan jenis, uniparental maupun mendeteksi hingga tingkat hibrida (Hoggard *et al.*, 2004). Region ini terletak pada *large single-copy region* dari

genome chloroplast. Region ini terdiri dari gen *trnL*, grup intron dan *trnL-trnF* intergenic spacer (Hao *et al.*, 2009). Gen *trnL-F* merupakan sekuen yang terletak pada *trnL* (UAA) 5' exon sampai *trnF* (GAA) yang kemudian disebut dengan *trnL-F* (Adjie *et al.*, 2008). Gen *trnL-F* menjadi *spacer gene* yang memiliki primer tertinggi bila dibandingkan dengan *rbcL* dan *matK*. Menurut Chen *et al* (2013), *trnL-F* merupakan sebuah alat yang efisien untuk mengidentifikasi gametofit dan potensial untuk menggali gametofit kelompok tumbuhan paku. *TrnL-F* memiliki tingkatan substitusi yang lebih tinggi dari *rbcL* dan *matK*.

2. Perumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik molekuler gen *trnL-F* pada tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*?
2. Bagaimana keragaman genetik tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* menggunakan DNA *barcoding* berdasarkan gen *trnL-F* ?
3. Bagaimana hubungan filogenetik *Rhodomyrtus tomentosa* menggunakan gen *trnL-F* ?

3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan karakteristik molekuler gen *trnL-F* pada tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*.
2. Untuk mengetahui keragaman genetik tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* menggunakan gen *trnL-F*.
3. Untuk melihat hubungan filogenetik *Rhodomyrtus tomentosa* dengan menggunakan gen *trnL-F*.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai informasi mengenai data molekuler tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* dalam DNA *barcoding* menggunakan gen *trnL-F* dan dapat dijadikan sebagai sumber informasi tambahan, bahan rujukan dan data ilmiah bagi mahasiswa, dosen, peneliti maupun masyarakat umum mengenai data molekuler tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*.

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember sampai dengan bulan Februari 2023. Sampel dikoleksi dari Bukit Tara Bunga, Kecamatan Tampahan, Kabupaten Toba, Sumatera Utara dan Desa Marom, Kecamatan Uluan, Sumatera Utara. Proses pengerjaan DNA *Barcoding* dilaksanakan di Laboratorium Genetika Lt. 4, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara.

Bahan dan Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain plastik klip kedap udara (plastic *zip-lock*), pena permanen, *aluminium foil*, gunting, tissue, kamera digital, *gloves*, spatula, mortal dan alu, timbangan digital, kertas parafilm, *ice box*, *tube* Eppendorf 1,5 ml dan 2ml, labu ukur 100, 250 dan 500 ml, mikro pipet (Rainin) dengan volume 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, dan 1000 μ l, tip mikro pipet kuning, biru, dan putih, rak tip, vortex (Biosan Multi-Vortex V-32), water bath, hot plate, centrifuge (Eppendorf), *microcentrifuge tube*, *spin column*, *collection tube*, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) gradient : MC nexus, tabung PCR, labu erlenmeyer 500 ml (Pyrex), gelas ukur 100ml, mini horizontal *electrophoresis* HU10 (BIO-RAD), alat *Gel Documentation* (BIOSTEP), PTC (*Programmer Thermal Cycler*), dan *freezer*. Bahan yang digunakan dalam penelitian DNA *barcoding* pada tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*, diantaranya adalah sampel daun tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* yang diambil dari Bukit Tara Bunga, Sumatera Utara , alkohol 70%, DNA Mini

Kit *Plant* (Geneaid), primer *trnF forward* (5'- ATT TGA ACT ACT GGT GAC ACG AG-3') dan primer *trnL reverse* (5'-GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC-3'), akuades steril, *loading dye* (*Thermos-scientific*), RNase (*Thermo-scientific*), TBE (*tris HCl*, asam borat, dan *EDTA*) 10x (1st Base), *DNA Ladder* 100 bp (Geneaid), primer reverse dan forward (Tabel 1.), *DNA loading dye*, *Gel Agarose* (Infritrogen), *red gel stain* (Infritrogen), *Taq Polymerase*, KIT PCR (*Myfi mix* Bioline) dan ddH2O (*deionized water*) atau akuabides.

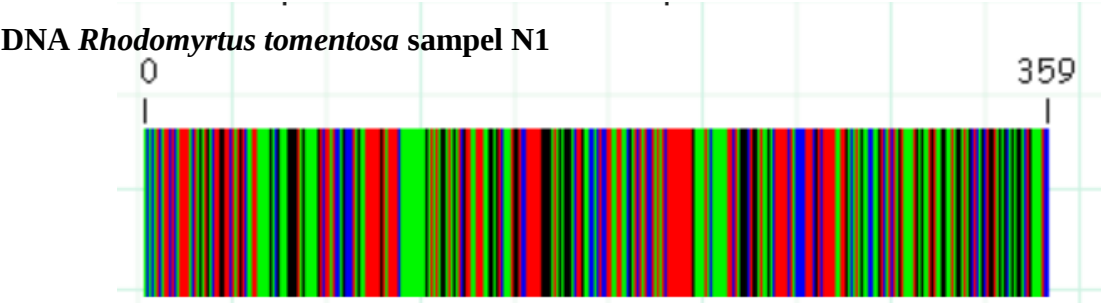
Analisis Data

Hasil sekuensing berupa kromatogram diedit menggunakan aplikasi Geneious Prime versi *trial* untuk melihat kualitas basa dan aplikasi Bioedit versi 7.2.5 untuk memperoleh sekuens konsensus berdasarkan sekuens konservatif yang dihasilkan dari sekuensing primer *trnL-F* dan *trnF-rev*. Sekuens konsensus yang telah diperoleh kemudian *dialignment* menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dari *National Center for Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Data dengan similaritas yang tinggi dengan sampel diikuti dalam analisis pohon filogenetik. Pohon filogenetik dibangun dengan menggunakan program *Molecular Evolutionary Genetik Analysis* (MEGA) 11. Analisis dilakukan untuk menghitung persentase similaritas, *GC Content* dan jarak genetik. Keragaman genetik antar sampel *Rhodomyrtus tomentosa* diidentifikasi dengan aplikasi MEGA 11

III. HASIL PENELITIAN

Karakteristik Molekuler Gen *trnL-F* pada Tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*

Karakteristik Molekuler *Rhodomyrtus tomentosa* berhasil dilakukan dengan gen *trnL-F*. Hasil didapatkan setelah melalui beberapa tahapan dan dijelaskan sebagai berikut: Sampel N1 tumbuhan Harimonting *Rhodomyrtus tomentosa* memperlihatkan hasil urutan nukleotida yang memiliki tingkatan similaritas 100% sehingga dapat digunakan sebagai *barcode* DNA.



Gambar 1. Ilustrasi nukleotida DNA dengan warna berbeda (A:hijau, T:merah, G: hitam dan C:biru) serta angka yang menunjukan panjang dari sekuen DNA yang dapat digunakan sebagai informasi sekuens DNA *Rhodomyrtus tomentosa* yang jelas.

Tabel 1. Urutan nukleotida DNA *Rhodomyrtus tomentosa*

Sampel	Urutan Sekuens
DNA <i>Rhodomyrtus tomentosa</i> Sampel N1	ACACATCATTCTCATTTTACTAGATGACTTGTTCTAT GTCAATTA AAAAGACGAAAGGGGTAGAAAAAGTCTT ATCCAGCCCTAGAATTTTTTGTATTTTCAAAAAAAA AGATATAGGATAGATCGTTAATTTAAGGAGTCAAATG GTCCTTTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAACCACTCCT TAATTAACGATCTATCCTATATCTTTTTTTTTTTGAAAA TACAAAAAATTCTAGGGCTGGATAAGACTTTTTCTAC CCCTTTCGTCTTTTAAATTGACATAGAACCAAGTCATC TAGTAAATGAGAATGTAAGGAATAGGATAGCTCAG

CTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCC

Penelitian *barcode* DNA dari tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) menggunakan gen *trnL-F* didapatkan dari hasil sekuensing (Tabel 1). Pada penelitian ini, gen *trnL-F* telah berhasil digunakan dalam pembuatan *Barcode* DNA untuk tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*. Gen *trnL-F* mudah digunakan untuk proses amplifikasi dan sekuensing, panjang urutan nukleotida pada fragmen DNA ampikon Fragmen ampikon DNA tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* sampel N1 yaitu 359 bp.. Wang *et al.*, (2017) berpendapat bahwa untuk melakukan amplifikasi, sekuensing dan pensejajaran (*alignment*) dan tanpa harus melakukan pengeditan manual, *barcode* DNA perlu memiliki urutan nukleotida yang pendek (<1000bp).

Keragaman genetik tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* menggunakan DNA barcoding dengan gen *trnL-F*

Analisis Variasi dan Presentase AT GC Content

Hasil dari analisis komposisi nukleotida yang berasal dari seluruh sampel pada penelitian menunjukkan bahwa *Rhodomyrtus tomentosa* sampel N1 memiliki persentase *AT content* (66,10%) dan *GC content* (33,89%). Tingginya presentase *AT content* disebabkan oleh sebagian besar komposisi nukleotida pada kloroplas tersusun atas basa nukleotida Adenin (A) dan Tymin (T).

Tabel 2. Analisis Variasi dan Presentase AT GC Content

No	Spesies	Basa Nukleotida (%)				A+T (%)	G+C (%)
		T	C	A	G		
1.	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (N1) Indonesia	31,63	16,38	34,46	17,51	66,10	33,89
2.	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> USA	27,11	16,38	40,11	16,38	67,23	32,76
2.	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> UK	34,46	11,86	41,80	11,86	76,27	23,72
2.	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> UK 2	27,11	16,38	40,11	16,38	67,23	32,76
	Avg	30,39	15,59	38,30	15,70	68,70	31,29

Semakin tinggi kandungan pasangan basa A dan T maka semakin tinggi titik lebur DNA, hal ini disebabkan karena pasangan A dan T lebih stabil dan memerlukan lebih banyak energi panas untuk menguraikannya dibandingkan dengan pasangan G dan C. Presentase *AT content* yang tinggi dibandingkan dengan *GC content* dipengaruhi oleh lokasi gen *trnL-F* yang teramplifikasi memiliki banyak substitusi nukleotida. Rendahnya persentase *CG content* menunjukkan bahwa spesies tersebut lebih primitif, dilihat dari hasil perhitungan rata-rata yaitu *AT content* (68,70%) dan *GC content* (31,29%) (Hapsari *et al.*, 2015).

Koefisien Similaritas Sampel

Jarak genetik antar populasi yang lebih besar dari (>) 3,0% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies yang sangat berbeda dan tidak termasuk dalam populasi takson yang diamati (Hebert, *et al.*, 2003). Jarak genetik antara populasi yang

sama biasanya kurang dari (<) 1,0% atau kurang dari (<) 2,0% (Xiong, 2006). *Pairwise distance* dapat dihitung menggunakan model yang berbeda.

Tabel 3. Koefisien Similaritas Sampel (*Pairwise Distance*)

Spesies	1	2	3	4	5	6
<i>R. tomentosa</i> (N2)	2725,649					
<i>R. tomentosa</i> (USA)	0065,359	0000,000				
<i>R. tomentosa</i> (UK)	0065,359	0000,000	0,042			
<i>R. tomentosa</i> (UK)	7225,000	3587,000	9668,560	5454,000	0000,000	

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan didapat kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakteristik molekuler dari sampel *Rhodomirtus tomentosa* menggunakan gen *trnL-F* yaitu didapatkan panjang nukleotida pada fragmen DNA amplikon yang terlihat pada sampel N1: 359bp.
2. Sekuens tumbuhan *Rhodomirtus tomentosa* yang dianalisis menggunakan aplikasi MEGA 11. Dilakukan perhitungan jarak genetik (*pairwise distance*), perhitungan *GC content*, dan keragaman nukleotida. Pada perhitungan *GC content* menunjukkan nilai *GC content* pada tumbuhan *Rhodomirtus tomentosa* lebih rendah yaitu : 33,89% dibandingkan dengan *AT content* 66.10% yang mengindikasikan spesies *Rhodomirtus tomentosa* sifatnya lebih primitif. Kemudian didapatkan nilai jarak genetik (*pairwise distance*) yaitu lebih dari (>) 3,0%, menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies yang sangat berbeda.
3. Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa hubungan filogenetik tumbuhan *Rhodomirtus tomentosa* yang dikoleksi dari Bukit Tara Bunga menggunakan gen *trnL-F* didapatkan spesies membentuk klad tersendiri, klad tersebut masuk kedalam kelompok monofiletik yang merupakan kelompok yang semua taksanya diturunkan dari satu nenek moyang (*common ancestor*) yang sama, tidak pada garis keturunan atau taksa yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjie, B., Takamiya, M., Ohta, M., Oshawa, T. A., & Watano, Y. (2008). *Molecular Phylogeny of the Lady Fern Genus Athyrium in Japan Based on Chloroplast rbcL and trnL-trnF Sequences*.
- Chen, C. W., Huang, Y. M., Kuo, L. Y., Nguyen, Q. D., Luu, H. T., Callado, J. R., Farrar, D. R., & Chiou, W. L. (2013). TrnL-F is a powerful marker for DNA identification of field vittarioid gametophytes (*Pteridaceae*). *Journal Annals of Botany*, 111(4), 663–673.
- 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. *Journal PLoS ONE*, 5(1).
- de Groot, G. A., During, H. J., Maas, J. W., Schneider, H., Vogel, J. C., & Erkens, R. H. J. (2011). Use of rbcL and trnL-F as a two-locus DNA barcode for identification of NW-European ferns: An ecological perspective. *Jou.rnal PLoS ONE*, 6(1).
- Hamid, H. A., Roziasyahira Mutazah, S. S. Z., & Yusoff, M. M. (2017). *Rhodomirtus tomentosa*: A phytochemical and pharmacological review. *Asian Journal of*

- Pharmaceutical and Clinical Research* 10 (1): 10–16. Innovare Academics Sciences Pvt. Ltd..
- Hanifa, R, Y., Sri P., Rejeki, S, F., & Hermin, P. (2021). Identifikasi Molekuler Jeruk Nipis Tegal Berdasarkan Fragmen Gen 18s Ribosomal RNA. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 8(2): 244-254.
- Hao, D. C., Huang, B. L., Chen, S. L., & Mu, J. (2009). Evolution of the Chloroplast *trnL-trnF* region in the *gymnosperm* lineages *taxaceae* and *cephalotaxaceae*. *Biochemical Genetics*, 47(5–6): 351–369.
- Hapsari, L. (2015). *Keragaman dan Kekerabatan Genetik Pisang (Musa L.) di Jawa Timur berdasarkan Sekuen Daerah Internal Transcribed Spacer*. UniversitasBrawijaya. Malang.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270 (1512): 313–321.
- Hoggard, G. D., Kores, P. J., Molvray, M., & Hoggard, R. K. (2004). The Phylogeny Of *Gaura (Onagraceae)* Based On ITS, ETS, And TRNL-F Sequence Data 1. *In American Journal of Botany*, 91 (1): 139-148.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcl* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. *Journal PLoS ONE*, 2 (6): 1-10
- Ramadany, Z. (2020). Desain Primer *Internal Transcribed Spacer (ITS)* Sebagai Dasar Identifikasi Molekuler Anggrek Obat *Dendrobium discolor Lindl. Skripsi*.
- Techen, N., Parveen, I., Pan, Z., & Khan, I. A. (2014). DNA barcoding of medicinal plant material for identification. *In Current Opinion in Biotechnology*, 25 (1): 103–110. Elsevier Ltd.
- Wang, D.-Y., Wang, Q., Wang, Y.-L., Xiang, X.-G., Huang, L.-Q., & Jin, X.-H. (2017). Evaluation of DNA barcodes in *Codonopsis (Campanulaceae)* and in some large angiosperm plant genera. *Journal PLoS One*: 1-14.
- Yenihayati. (2018). Identification of secondary metabolites. *Jurnal Pendidikan Teknologi Dan Kejuruan BALANGA*, 6(1): 1-12.
- Yuliana, I., Asnawati, & Maria Ulfa. (2021). *Potensi Daun Karamunting Sebagai Fitofarmaka Penyakit Diabetes Mellitus*. Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.
- Zhang, D., Duan, L., & Zhou, N. (2014). Application of DNA barcoding in *Roscoea (Zingiberaceae)* and a primary discussion on taxonomic status of *Roscoea cautleoides* var. *pubescens*. *Journal Biochemical Systematics and Ecology*, 52: 14–19.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
05 Desember 2023	28 Desember 2023	15 Januari 2024	Ya