

# **Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA *Barcoding*: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Alpinia* (Zingiberaceae)**

Nisrina Farraz Azmi

Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-BRIN  
Jl. Ir. H. Juanda No. 13 Bogor, Indonesia. 16122  
Email: nisrina.azmi@mhs.unsoed.ac.id

## **ABSTRACT**

*Zingiberaceae* is the largest family of the order *Zingiberales* which has several uses for various purposes, such as food additives, ornamental plants, beverages, perfumes, medicines and others. One part of the *Zingiberaceae* family is *Alpinia* which is the most complex genus. According to research, the *Alpinia* genus has 230 species and has therapeutic potential for several diseases such as cancer, diabetes, ulcers, and several neurological disorders. Apart from the many potentials possessed by the genus *Alpinia*, there are several obstacles in the study of this genus, including the many taxa and species of *Alpinia* which are difficult to identify solely by relying on morphological characters. Because of this, a molecular approach with DNA barcoding can be used to assist the process of identifying *Alpinia* species. This DNA barcoding method can be used to identify barcoded DNA sequences in plants by means of total DNA isolation followed by standard gene amplification and sequencing stages.

**Keywords:** *Zingiberaceae*; *Alpinia*; DNA Barcoding

## **ABSTRAK**

Zingiberaceae adalah famili terbesar dari ordo Zingiberales yang memiliki beberapa manfaat dalam berbagai tujuan, seperti bahan tambahan makanan, tanaman hias, minuman, wewangian, obat-obatan dan lainnya. Salah satu bagian dari famili Zingiberaceae adalah *Alpinia* yang merupakan genus yang paling kompleks. Menurut penelitian, genus *Alpinia* memiliki 230 spesies dan memiliki potensi terapi untuk beberapa macam penyakit seperti kanker, diabetes, maag, dan beberapa penyakit gangguan syaraf. Terlepas dari banyaknya potensial yang dimiliki oleh genus *Alpinia*, terdapat beberapa hambatan dalam studi mengenai genus ini, di antaranya adalah banyaknya taksa dan spesies *Alpinia* yang sulit diidentifikasi hanya dengan mengandalkan karakter morfologi. Oleh karena hal tersebut, maka pendekatan molekuler dengan DNA *barcoding* dapat dilakukan untuk membantu proses identifikasi spesies *Alpinia*. Metode DNA *barcoding* ini dapat digunakan dalam identifikasi sekuens DNA *barcode* pada tumbuhan dengan proses isolasi DNA total yang dilanjutkan dengan amplifikasi gen standar dan tahapan sekuensing.

**Kata Kunci:** *Zingiberaceae*, *Alpinia*, DNA Barcoding.

## **PENDAHULUAN**

Zingiberaceae merupakan famili terbesar pada ordo Zingiberales yang umumnya ditemukan pada wilayah tropis dan subtropis. Berbagai spesies *Zingiberaceae* biasa dimanfaatkan dalam berbagai tujuan, seperti obat-obatan, bahan tambahan makanan, tanaman hias, minuman, kosmetik, wewangian makanan, dan juga sebagai pelengkap dalam ritual dan upacara adat (Larsen et al. 1999, Ibrahim 2006) dalam Salasiah, Alona and Meekiong, 2022). *Alpinia* merupakan salah satu anggota famili Zingiberaceae dan berasal dari Asia, Australia, dan

daerah Kepulauan Pasifik (Setiawan et al., 2022). Genus *Alpinia*, seperti *A. Japonica*, *A. katsumadai*, *A. zerumbet*, *A. conchigera*, *A. galanga*, *A. hainanensis*, *A. ligulata*, dan *A. nieiwwenhuizii* merupakan genus yang paling kompleks dalam famili Zingiberaceae. Sebanyak 230 spesies dan hampir semua spesies *Alpinia* mengandung terpenoid yang mudah menguap di bagian rimpang dan daunnya (Asakawa et al., 2017).

Berdasarkan sistem klasifikasi pada *Alpinia* yang didasarkan oleh susunan ciri morfologi, marga *Alpinia* terbagi dalam dua anak marga, yaitu



## Seminar Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komdis Daerah Jawa Barat 2023

*Alpinia* (memiliki *labelum petaloid*) dan *Dieramalpinia* (tidak memiliki *labelum petaloid*) (Smith 1990) dalam (Setiawan *et al.*, 2021). Sementara itu, berdasarkan sistem klasifikasi *Alpinia* dengan menggunakan data molekuler terbaru yang dilakukan pada anak suku Alpinioideae (marga *Alpinia* dan marga kerabat terdekatnya) dengan penanda molekuler ITS dan *matK*, diketahui bahwa marga *Alpinia* adalah kelompok parafiletik yang membagi beberapa jenis terpisah dalam beberapa klad berbeda (Kress *et al.* 2005) dalam (Setiawan *et al.*, 2021).

*Alpinia ligulata* merupakan salah satu spesies anggota genus *Alpinia* yang biasa hidup pada tempat atau daerah yang ternaungi, tetapi mendapatkan intensitas matahari yang cukup. *Alpinia* secara alamiah hidup berkelompok di daerah-daerah lembah, hutan terbuka, atau hutan sekunder. Sekilas, spesies *Alpinia ligulata* memiliki morfologi yang sama dengan *Alpinia nieuwenhuizii*, tetapi yang membedakan di antara keduanya adalah spesies *Alpinia ligulata* yang memiliki buah dengan corak kehijauan dan sedikit pembungaan (Mahmudi, Anwari and Wahdina, 2020).

Studi berbasis DNA menunjukkan bahwa genus *Alpinia* sebagai representasi polifiletik dengan 6 klad yang tersebar (Kress *et al.* 2005) dalam (Ghosh and Rangan, 2013). *Alpinia* banyak menarik perhatian para peneliti karena ditemukan fakta bahwa memiliki potensi terapi terhadap beberapa penyakit seperti kanker, diabetes, maag dan berbagai penyakit gangguan saraf. Beberapa penelitian juga menyampaikan bahwa pentingnya aplikasi medis untuk mengetahui potensi senyawa bioaktif yang diisolasi dari beberapa spesies yang berbeda genus, dan dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengungkap mekanisme aksi senyawa

bioaktif alami *Alpinia* untuk dapat dikembangkan sebagai penyembuhan penyakit (Ghosh and Rangan, 2013).

Terlepas dari potensi yang dimiliki oleh genus *Alpinia*, studi tentang genus ini memiliki beberapa hambatan, seperti banyaknya taksa tanaman dan spesies *Alpinia* yang sulit diidentifikasi karena sering kali tidak jelas terlihat karakter morfologinya, terutama pada bentuk rimpang, plastitas fenotipik, dan musim pendek pembungaan (Shi *et al.* 2011; Vinita *et al.* 2014) dalam (Tan, Chai and Chin, 2020). Ditunjukkan bahwa teknik identifikasi secara morfologi tradisional terkadang tidak memadai. Oleh karena itu, DNA *barcoding* dapat digunakan sebagai pelengkap atau pengganti dalam proses identifikasi spesies *Alpinia* (Tan, Chai and Chin, 2020).

### DNA BARCODING

DNA *barcoding* adalah salah satu teknik yang dapat digunakan untuk proses identifikasi organisme dengan menggunakan potongan gen tertentu. Teknik ini dinilai lebih cepat dan mempermudah proses identifikasi organisme. DNA *barcoding* biasa digunakan oleh para ahli taksonomi dalam mengidentifikasi spesies karena prosesnya yang cepat dan relatif murah dibandingkan dengan identifikasi morfologi. Proses identifikasi dan mempertahankan keragaman genetik suatu populasi merupakan poin penting dalam suatu konservasi menurut Rimbawanto *et al.*, (2012) dalam (Bangol, Momuat and Kumaunang, 2014).

Dalam prosesnya, DNA *barcoding* memiliki prinsip dasar identifikasi menggunakan sekuen DNA pendek “*barcode*” yang berasal dari bagian standar genom dari spesimen yang diteliti. Urutan *barcode* yang belum diketahui nantinya akan dibandingkan dengan



## Seminar Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komdisariat Daerah Jawa Barat 2023

pustaka sekuen *barcode* yang identitasnya telah diketahui. Data sekuen tersebut dapat diakses melalui bank gen NCBI (*National Center for Biotechnology*

*Information*) untuk dibandingkan nantinya dengan hasil yang diperoleh (Wardi *et al.*, 2020).

Species	ITS	<i>trnK/matK</i>	Reference / Voucher
<b>Tribe Alpinieae</b>			
<i>Aframomum angustifolium</i> (Sonn.) K.Schum.	AF478704	AF478804	Kress #92-3403 (US)
<i>Alpinia abundiflora</i> B.L.Burt & R.M.Sm.	AY742334	AY742393	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia arctiflora</i> (F.Muell.) Benth.	AY742336	AY742395	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia argentea</i> (B.L.Burt & R.M.Sm.) R.M.Sm.	AY742337	AY742396	CS 02-303 (HLA)
<i>Alpinia arundelliana</i> (F.M.Bailey) K.Schum.	AY742338	AY742397	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia bilamellata</i> Makino	AY742339	AY742398	L-97.0268 (HLA)
<i>Alpinia brevibractea</i> C.Presl	AY742339	AY742399	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia caerulea</i> (R.Br.) Benth.	AY742342	AY742400	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia calcarata</i> (Haw.) Roscoe	AF478710	AF478810	Kress #94-3657 (US)
<i>Alpinia carolinensis</i> Koidz.	AF478711	AF478811	Kress #99-6404 (US)
<i>Alpinia conchigera</i> Griff.	AF478712	AF478812	Kress #00-6706 (US)
<i>Alpinia congesta</i> Elmer*	LT717106	LT717120	R.V.A. Docot 0018 (USTH)
<i>Alpinia diversifolia</i> (Elmer) Elmer*	LT717105	LT717122	R.V.A. Docot 0034 (USTH)
<i>Alpinia elegans</i> (C.Presl) K.Schum.	AF478713	AF478813	Kress #99-6412 (US)
<i>Alpinia eremochlamys</i> K.Schum.	AY742346	AY742404	SJL02-68 (E)
<i>Alpinia eubractea</i> K.Schum.	AY742347	-	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia fax</i> B.L.Burt & R.M.Sm.	AY742348	AY742405	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia flabellata</i> Ridl.	AY742349	AY742406	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia galanga</i> (L.) Willd.	AF478715	AF478815	Kress #94-5263 (US)
<i>Alpinia haenkei</i> C.Presl	AY742354	AY742410	L-82.0072 (HLA)
<i>Alpinia javanica</i> Blume	AY742358	AY742413	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia ligulata</i> K.Schum.	AY742361	AY742415	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia luteocarpa</i> Elmer	AF478717	AF478817	Kress #99-6403 (US)
<i>Alpinia modesta</i> F.Muell. ex K.Schum.	AY742364	AY742418	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia monopleuria</i> K.Schum.	AY742363	AY742419	SJL143 (E)
<i>Alpinia murdochii</i> Ridl.	KY438007	KY620260	O. Šída, T. Fér & E. Závorská M-11-1 (PR)
<i>Alpinia nutans</i> (L.) Roscoe	AY742369	AY742423	CS 02-337 (HLA)
<i>Alpinia oceanica</i> Burkill	AY742370	AY742424	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia officinarum</i> Hance	AF478718	AF478818	Kress #00-6614 (US)
<i>Alpinia oxyphylla</i> Miq.	AY742372	AY742425	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia pincetorum</i> (Ridl.) Loes.	AY742373	AY742426	CS 02-300 (HLA)
<i>Alpinia purpurata</i> (Vieill.) K.Schum.	AY742375	AY742429	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia rafflesiana</i> Wall. ex Baker	AY742376	AY742430	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia rufa</i> (C.Presl) K.Schum.	LT717109	LT717125	R.V.A. Docot 0063 (USTH)
<i>Alpinia sibuyanensis</i> Elmer	AY742381	AY742434	L-99.0098 (HLA)
<i>Alpinia vanoverberghii</i> Merr.*	LT717107	LT717123	R.V.A. Docot 0005 (USTH)
<i>Alpinia vittata</i> W.Bull	AF478720	AF478820	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Alpinia warburgii</i> K.Schum.	AY742388	AY742442	SJL02-169 (E)
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm.	AY742389	AY742443	Rangsinuji <i>et al.</i> (2000)
<i>Amomum maximum</i> Roxb.	AY351995	AY352025	Xia-725 (HITBC)
<i>Etingera littoralis</i> (J.Koenig) Giseke	AF478750	AF478849	Kress #99-6323 (US)
<i>Geocharis fusiformis</i> (Ridl.) R.M.Sm. var. <i>borneensis</i> R.M.Sm.	AF414487	-	L.B. Pedersen 1141 (C)
<i>Geostachys densiflora</i> Ridl.	KY438011	KY620238	O. Šída, T. Fér & E. Závorská M-11-2 (PR)
<i>Homstedtia scyphifera</i> (J.Koenig) Steud.	KY438021	-	J. Škorničk <i>et al.</i> SNG-21 (SING)
<i>Lanxangia tsoko</i> (Crevost & Lemarié) M.F.Newman & Škorničk.	AY352007	AY352037	Xia-734 (HITBC)
<i>Leptosolenia haenkei</i> C.Presl	AY742331	AY742390	Funakoshi & Co 2006 (US)
<i>Plagiostachys</i> sp.	AF478773	AF478873	Kress #00-6745 (US)
<i>Renanthera battenbergiana</i> Cummins ex Baker	AF478779	AF478880	Kress #94-5277 (US)
<i>Vanoverberghia rubrobracteata</i> Docot & Ambida (1)*	MH270333	MH286066	R.V.A. Docot 0118 (USTH)
<i>Vanoverberghia rubrobracteata</i> Docot & Ambida (2)*	MH270334	MH286067	R.V.A. Docot 0123 (USTH)
<i>Vanoverberghia sasakiana</i> Fumak. & H.Ohashi*	MH270332	MH286065	Seiguchi 23 (TI)
<i>Vanoverberghia sepulchrei</i> Merr. (1)	AF478798	AF478899	Kress #95-5562 (US)
<i>Vanoverberghia sepulchrei</i> Merr. (2)*	MH270331	MH286064	R.V.A. Docot 0027 (USTH)
<i>Wurfbainia uliginosa</i> (J.Koenig) Škorničk. & A.D.Poulsen	AY352008	AY352038	99.0474 (HLA)
<b>Incertae sedis</b>			
<i>Silquamomum oreodoxa</i> N.S.Lý & Škorničk.	KY438093	KY620221	S. Hul & N.S. Lý 3583 (E)
<b>Tribe Riedelieae</b>			
<i>Burbridgea schizochelia</i> Hackett	AF478729	AF478828	Kress #01-6867 (US)
<i>Pleuranthodium schlechteri</i> (K.Schum.) R.M.Sm.	AF478775	AF478876	Kress #00-6725 (US)
<b>Tribe Globbeae</b>			
<i>Globba curtisii</i> Holttum	AF478754	AF478853	Kress #99-6347 (US)
<b>Tribe Zingibereae</b>			
<i>Zingiber wrayi</i> Ridl.	AF478802	AF478905	Kress #00-6721 (US)
<b>Tribe Tamiieae</b>			
<i>Tamijia flagellaris</i> S.Sakai & Nagam.	AF47879	AF478898	K. Ooi #S55 (KYO)
<b>Tribe Siphonochileae</b>			
<i>Siphonochilus decorus</i> (Drueten) Lock	AF478793	AF478894	GH #00-135 (US)

Gambar 1. Daftar dari detail *accession* GenBank dari ITS dan *trnK/matK* regions, *vouchers*, dan referensi yang digunakan dalam analisis filogenetik. Taksa dengan tanda bintang (\*) merupakan sekuens baru.

Metode DNA *barcoding* ini dimulai dengan proses isolasi DNA total, selanjutnya adalah tahap amplifikasi gen standar *ribulosa-1,5-bisofat karboksilase*

(*rbcL*) atau *maturase K (matK)* dengan *polymerase chain reaction (PCR)* dan tahapan sekuensing untuk identifikasi sekuens DNA *barcode* pada tumbuhan.

Peran gen standar ini adalah untuk mempelajari keanekaragaman genetik tumbuhan berdasarkan sekuens DNA yang dimilikinya. Perbedaan antara gen *matK* dan *rbcL* adalah pada gen *matK* lebih sulit untuk diamplifikasi, tetapi menunjukkan resolusi lebih tinggi dalam perbandingan spesies tumbuhan, sedangkan gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasi, tetapi resolusinya lebih rendah untuk membedakan beberapa spesies yang berkerabat dekat (Hollingsworth et al., 2011) dalam (Bangol, Momuat and Kumaunang, 2014). Selain gen standar *matK* dan *rbcL*, DNA *barcoding* juga dapat menggunakan *nuclear-encoded ribosomal internal transcribed spacer* (ITS) atau fragmen yang lebih pendek (ITS2). Dalam mengidentifikasi tumbuhan, DNA *barcode* ITS2 merupakan pilihan yang lebih baik di antara yang lainnya karena memiliki universalitas yang baik, variasi intraspesifik yang kecil, divergensi antarspesifik yang tinggi, dan panjang fragmen yang pendek (Chen et al. 2010) dalam (Tan, Chai and Chin, 2020).

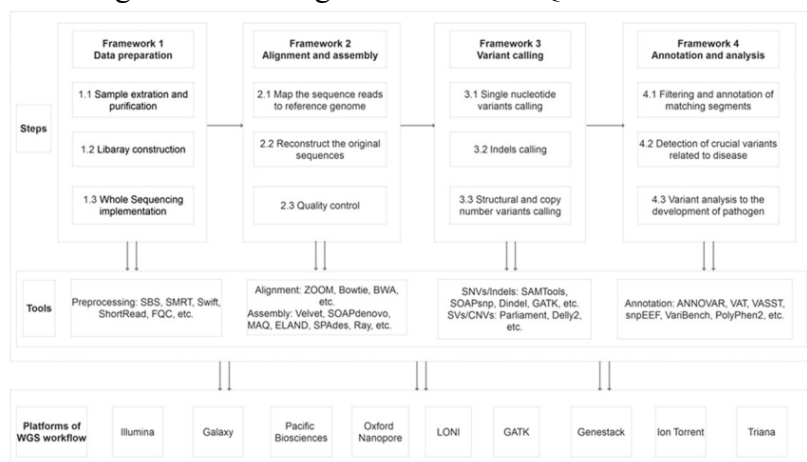
### WHOLE GENOME SEQUENCING

*Whole genome sequencing* merupakan proses laborator yang melakukan pengurutan seluruh sekuens DNA dari sebuah organisme sekaligus.

Proses ini melibatkan teknik pengungkapan urutan basa suatu organisme pada genome secara lengkap dengan metode pengurutan DNA secara otomatis untuk pengumpulan data biologis.

Gen dalam genome umumnya tidak bekerja secara individual dan fungsi yang dimiliki dikendalikan oleh berbagai elemen pengatur. Implementasi *whole genome sequencing* mencirikan informasi terkait DNA yang terlibat ekspresi gen. Selain itu, *whole genome sequencing* mampu menampilkan lebih banyak informasi komprehensif mengenai gen dengan pengurutan DNA nonkode (Yin, Kwoh and Zheng, 2018).

Tahapan pertama dalam *whole genome sequencing* adalah persiapan data atau sampel. Untuk memperoleh sekuens, material genomik perlu dikelola menjadi data kumpulan sampel/perpustakaan yang mencakup fragmen pendek. Persiapan mencakup beberapa tahapan. Tahap pertama adalah membagi sumber dari materi genetik berdasarkan panjang. Tahap selanjutnya adalah memperkaya adaptor yang terikat dengan data kumpulan sampel. Tahap terakhir adalah validasi dan kualifikasi hasil yang diperoleh berdasarkan standar dan format FASTQ.



Gambar 2. skema *whole genome sequencing*

Tujuan dari analisis genomik adalah untuk mengetahui efek dari varian genomik pada fungsi *wild-type gene*. Kemajuan dalam WGS telah menghasilkan peningkatan dalam variasi genetik. *Whole genome sequencing* juga mampu untuk mengidentifikasi varian genomik terkait jenis, lokasi, efek potensial, dan fungsi lainnya yang spesifik.

### **STUDI KASUS: PENGGUNAAN BARCODE PADA *Alpinia ligulata***

Beberapa studi menyatakan bahwa telah melakukan evaluasi DNA *barcode* untuk famili *Alpinia* dengan beberapa hasil yang terverifikasi. Vinitha et al (2014) menyatakan bahwa kombinasi dari *matK* dan *rbcL* adalah yang terbaik untuk identifikasi *Zingiberaceae* (Tan, Chai and Chin, 2020).

Berdasarkan Shi et al (2011) dalam Tan, Chai and Chin (2020), penggunaan DNA *barcode* ITS2 memiliki efisiensi tertinggi dalam mengidentifikasi spesies di antara 6 *barcode* terpilih *Zingiberaceae*. Vinitha et al (2014) menyatakan bahwa kombinasi *matK* dan *rbcL* merupakan kandidat yang lebih sesuai dengan *Zingiberaceae*. Karena hasil yang berbeda tersebut, langkah pertama yang dilakukan adalah melakukan evaluasi DNA *barcode* ITS2 sebelum membuat perpustakaan DNA *barcode* yang akan digunakan untuk membantu identifikasi taksonomi spesies *Alpinia* di Semenanjung Malaysia. Dengan demikian, kriteria universalitas dan tingkat kebenaran identifikasi spesies dinilai untuk menentukan kesesuaian DNA *barcode* genus *Alpinia* (Tan, Chai and Chin, 2020).

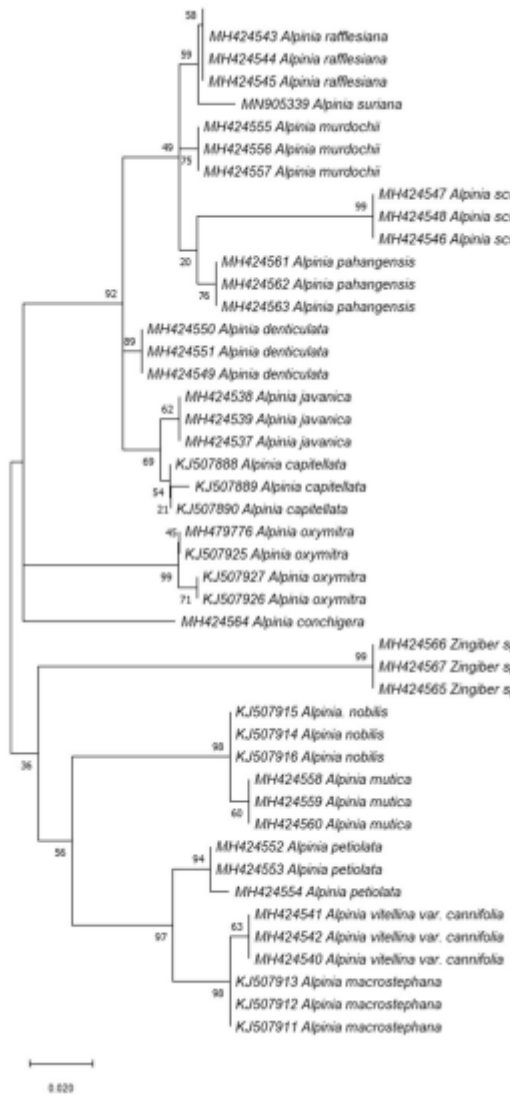
Untuk determinasi identifikasi spesies *Alpinia* dengan ITS2 sebagai DNA *barcode*, dua upaya dilakukan, yaitu *tree based* dan *distance based*. Pendekatan secara *tree based* dilakukan untuk penyelesaian identifikasi taksonomi dari

sampel spesies *Alpinia* dengan menggunakan filogenetik analisis strategi yang berbeda dengan sampel *outgroup Z*.

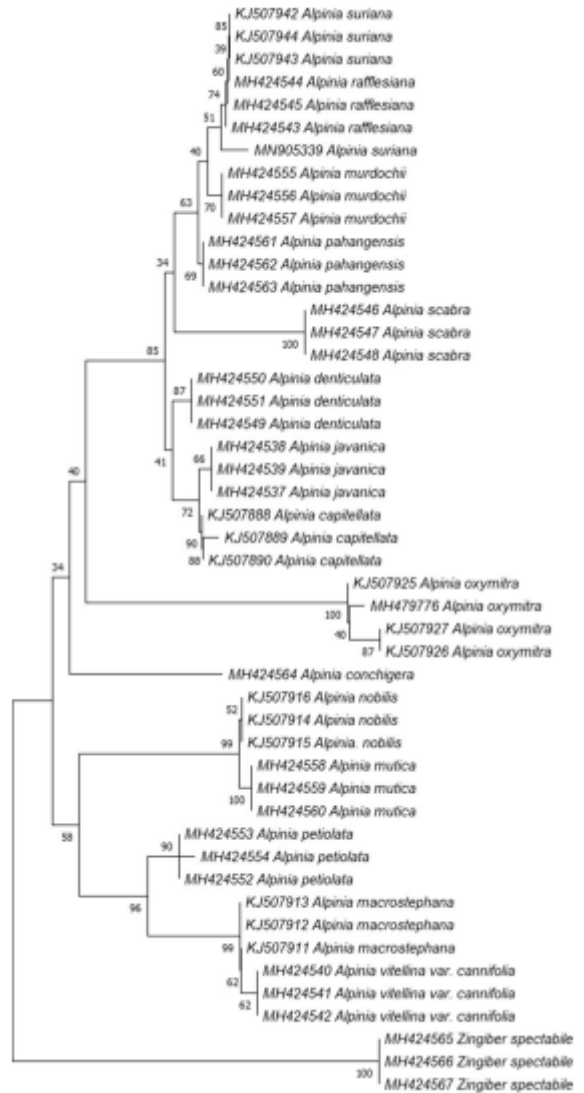
Universaliti dari DNA *barcode* ITS2 ditentukan oleh hasil dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing. Dalam studi, yang dilampirkan, total sebanyak 32 sekuens ITS2 merepresentasikan 11 spesies yang berhasil dipulihkan. Kesuksesan PCR yang tinggi (100%, n=33) telah diamati untuk lokus ITS2.

Studi yang telah ada mempresentasikan kesuksesan DNA *barcode* ITS2 dalam identifikasi spesies untuk famili *Zingiberaceae*. Berdasarkan kriteria universaliti dan kesuksesan identifikasi spesies, DNA *barcode* ITS2 dinilai efisien dan layak untuk digunakan untuk mengidentifikasi spesies *Alpinia*. Universaliti merupakan komponen penting dalam DNA *barcoding*, hal tersebut karena pemulihan target lokus harus sederhana, efisien, dan konsisten. Studi menyatakan bahwa DNA *barcoding* ITS2 mendemonstrasikan universaliti yang baik dengan PCR sukses pada pemulihan amplicons ITS2 dari semua sampel. Kesuksesan identifikasi spesies ditentukan oleh lokus dengan variasi genetik yang dipilih dan metode yang digunakan. Variabilitas genetik yang cukup ditemukan dalam ITS2, hal tersebut karena kedua analisis tersebut mampu sukses secara konsisten menyelesaikan 88,2% spesies sampel. Tingkat revolusi spesies yang serupa dapat ditemukan pada studi lain yang membahas *Zingiberaceae*.

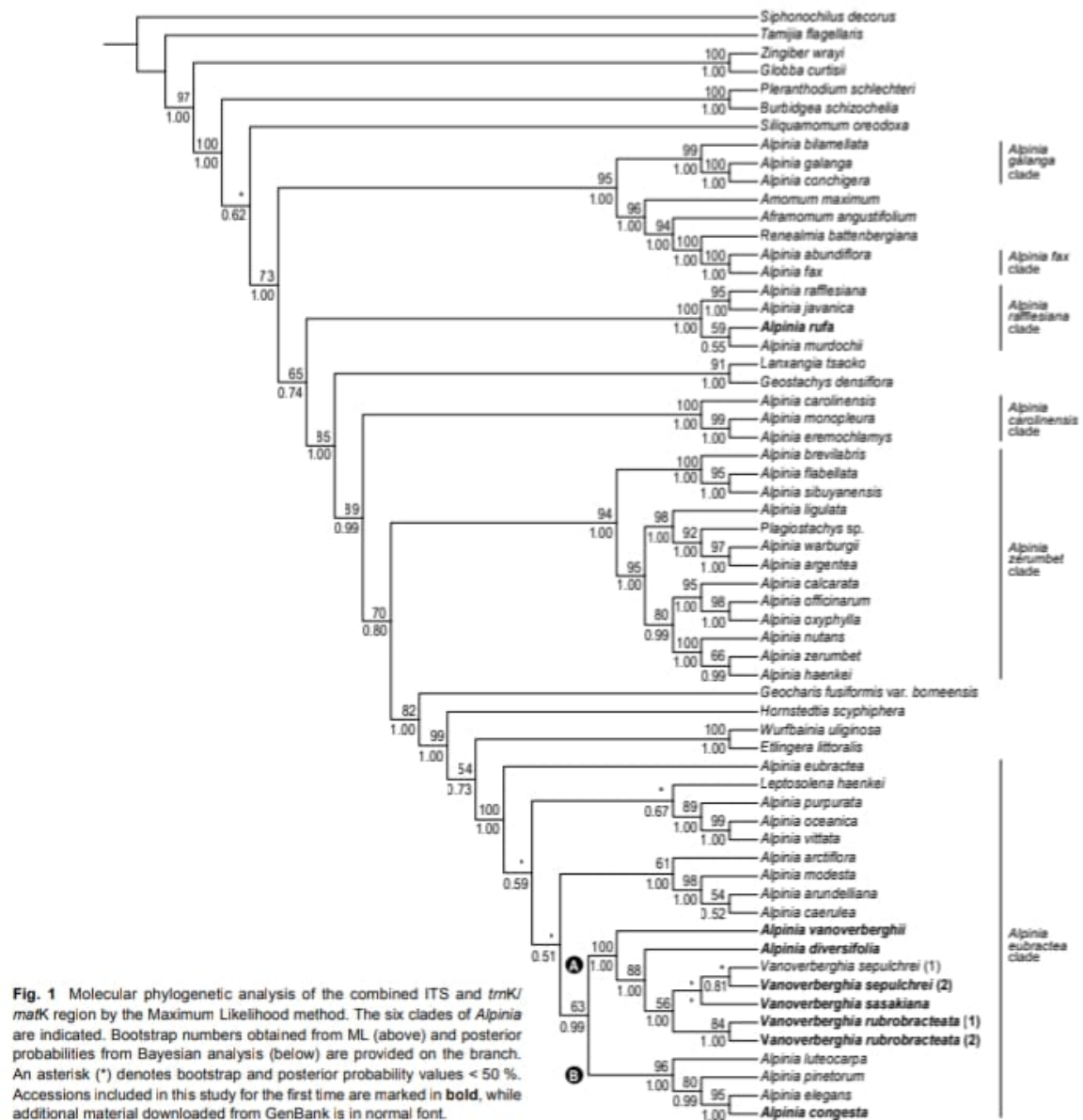
Meskipun ITS2 menunjukkan hasil yang baik sebagai DNA *barcode* untuk menyelesaikan identifikasi spesies *Alpinia*, tetapi DNA *barcode* lain juga telah melakukan test terhadap *Alpinia*. Berikut adalah beberapa perbedaan dalam performa DNA *barcode* berdasarkan spesiesnya,



Gambar 3. *Neighbor-Joining* (NJ) Tree dari spesies *Alpina* di Peninsular Malaysia yang dikonstruksi dengan ITS2. Nilai bootstrap (1000 replika) ditunjukkan oleh setiap cabang.



Gambar 4. *Maximum Likelihood* (ML) Tree dari spesies *Alpina* di Peninsular Malaysia yang dikonstruksi dengan ITS2. Nilai bootstrap (1000 replika) ditunjukkan oleh setiap cabang.



Gambar 5. Analisis filogenetik molekular yang terdiri atas kombinasi region ITS dan *matK* dengan metode *Maximum Likelihood*.

Enam klad dari *Alpinia* terindikasi. Nomor Bootstrap berasal dari ML (atas) dan probabilitas posterior dari analisis Bayesian (bawah) adalah yang disediakan oleh cabang filogeni. Tanda bintang (\*) menunjukkan bootstrap dan nilai probabilitas posterior < 50%. Aksesori yang dimasukkan dalam penelitian ini pertama kalinya ditandai dengan huruf yang

dicetak tebal, sedangkan materi tambahan yang diunduh dari GenBank ditulis dengan huruf normal.

Diketahui bahwa ITS2 adalah sebuah DNA *barcode* yang efektif untuk Zingiberaceae, tetapi ditemukan memiliki universaliti rendah ketika dilakukan tes terhadap Zingiberaceae dari India dan spesies curcuma dari Myanmar dan China.



## Seminar Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komdis Daerah Jawa Barat 2023

Hal tersebut didasarkan oleh presensi dari *intragenomic heterogeneity* dalam ITS2 pada spesies *Alpinia* (Tan, Chai and Chin, 2020).

### KESIMPULAN

Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, proses identifikasi tumbuhan juga mengalami kemajuan. Metode yang dapat digunakan untuk identifikasi spesies tumbuhan kini tak hanya mengandalkan karakter morfologi saja, namun dapat dilakukan dengan menggunakan metode DNA *barcoding*. Perlakuan identifikasi dengan DNA *barcoding* dinilai lebih efisien dan akurat dibandingkan dengan hanya mengamati karakter morfologi. Hal tersebut karena teknik identifikasi secara morfologi tradisional terkadang tidak memadai untuk genus yang memiliki banyak taksa dan sering kali tidak terlihat dengan jelas karakter morfologinya seperti genus *Alpinia*. Penerapan metode DNA *barcode* pada spesies *Alpinia* telah dilakukan dan studi menyatakan bahwa kombinasi dari *matK* dan *rbcL* adalah yang terbaik untuk identifikasi tersebut. Namun, studi lain menyatakan bahwa DNA *barcode* ITS2 dinilai lebih efisien dan layak untuk identifikasi spesies *Alpinia* karena mampu mendemonstrasikan universaliti yang baik dengan PCR sukses dari semua sampel yang diteliti. Kelemahan dari ITS2 pada *barcode* DNA adalah tingkat universaliti yang rendah ketika dilakukan tes pada Zingiberaceae dari India dan spesies *Curcuma* dari Myanmar dan China berdasarkan presensi *intragenomic heterogeneity* dalam ITS2 pada spesies *Alpinia*.

### DAFTAR PUSTAKA

Asakawa, Y. *et al.* (2017) 'Comparative study on volatile compounds of

*Alpinia japonica* and *Elettaria cardamomum*', *Journal of Oleo Science*, 66(8), pp. 871–876. doi: 10.5650/jos.ess17048.

Bangol, I., Momuat, L. I. and Kumaunang, M. (2014) 'Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule* R.) Berdasarkan Gen *matK*', *Jurnal MIPA*, 3(2), p. 113. doi: 10.35799/jm.3.2.2014.5862.

Chen S, Yao H, Han J et al (2010) Validation of the ITS2 region as a novel DNA *barcode* for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE* 5:1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>.

Ghosh, S. and Rangan, L. (2013) 'Alpinia: the gold mine of future therapeutics', *3 Biotech*, 3(3), pp. 173–185. doi: 10.1007/s13205-012-0089-x.

Hollingsworth, P.M., S.W. Graham, dan D.P. Little. 2011. Choosing and using a plant DNA *barcode*. *Plo. Sone*. 6:e19254.

Ibrahim H. 2006. Gingers. Pp 62–63 in E. Soepadmo (Ed.) *The Encyclopaedia of Malaysia: Plants*. Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia, Kuala Lumpur

Kress WJ, Liu AZ, Newman M, Li QJ (2005) The molecular phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): a complex and polyphyletic genus of gingers. *Am J Bot* 92:167–178

Larsen K, Ibrahim H, Khaw SH et al. 1999. *Gingers of Peninsular Malaysia and Singapore*. Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Malaysia.

Mahmudi, M., Anwari, M. S. and Wahdina, W. (2020) 'Eksplorasi Jenis – Jenis Zingiberaceae Di Cagar Alam Raya Pasi Gunung Poteng Kota Singkawang Kalimantan Barat',





## Seminar Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komisariat Daerah Jawa Barat 2023

- Jurnal Hutan Lestari*, 8(2), pp. 310–314. doi: 10.26418/jhl.v8i2.39965.
- Rimbawanto, A., B. Leksono, dan Widyatmoko. 2012. Bioteknologi Hutan untuk Produksi dan Konservasi Sumber Daya Hutan. Prosiding Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan; Yogyakarta, 9 Oktober 2012. Seminar Nasional Bioteknologi Hutan. Hlm 11- 20.
- Salasiah, M., Alona, C. and Meekiong, K. (2022) 'Essential Oil Components in Selected Species of Alpinieae (Zingiberaceae) From Sarawak and Its Taxonomic Correlation', *Journal of Tropical Forest Science*, 34(2), pp. 221–235. doi: 10.26525/jtfs2022.34.2.221.
- Setiawan, E. *et al.* (2021) 'VARIASI STRUKTUR ANATOMI DAUN BEBERAPA JENIS *Alpinia* Roxb. DI MALESIA', 14(2), pp. 294–303.
- Setiawan, E. *et al.* (2022) 'The diversity and distribution of *Alpinia* zerumbet clade in West Malesia', *Biodiversitas*, 23(4), pp. 1734–1744. doi: 10.13057/biodiv/d230403.
- Shi LC, Zhang J, Han JP *et al* (2011) Testing the potential of proposed DNA *barcodes* for species identification of Zingiberaceae. *J Syst Evol* 49:261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2011.00133.x>.
- Tan, W. H., Chai, L. C. and Chin, C. F. (2020) 'Efficacy of DNA *barcode* internal transcribed spacer 2 (ITS 2) in phylogenetic study of *Alpinia* species from Peninsular Malaysia', *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(9), pp. 1889–1896. doi: 10.1007/s12298-020-00868-1.
- Wardi, E. S. *et al.* (2020) 'BARKOD DNA PADA TANAMAN GAMBIR (*Uncaria gambir*(Hunter) Roxb.) BERDASARKAN GEN *matK* DAN *rbcL*', *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 12(1), pp. 22–28. doi: 10.33096/jifa.v12i1.587.