**BARCODE DNA TANAMAN MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.)  
BERDASARKAN GEN ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**Ria Afrianti<sup>1\*</sup>, Epi Supri Wardi<sup>2</sup>, Aulia Heniken Putri<sup>3</sup>, Suryani Suryani<sup>4</sup><sup>1,2,3</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat<sup>4</sup>Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat\*Email : [afrianti81@gmail.com](mailto:afrianti81@gmail.com)**Detail Artikel**Diterima : 19 Januari 2023  
Direvisi : 23 April 2023  
Diterbitkan : 3 Mei 2023**Kata Kunci***Morinda citrifolia* L  
Gen ITS  
PCR  
DNA Barcode**Penulis Korespondensi**Name : Ria Afrianti  
Affiliation : Universitas Perintis  
Indonesia  
E-mail : [afrianti81@gmail.com](mailto:afrianti81@gmail.com)**ABSTRACT**

*Morphological identification of plants has many weaknesses, with the development of electronics and genetics technology, a new method for identifying plant and animal species has been developed, namely Barcode DNA technology that uses standard short pieces of DNA. The purpose of this study was to determine the ability of the Internal Transcribed Spacer DNA Barcode (ITS) in identifying 2 varieties of noni plants. The method used was DNA isolation using the Wizard Genomic DNA Purification Kit, amplification of ITS genes using ITS4 and ITS5 primers, detection of base length by agarose gel electrophoresis then analysis of ITS gene sequences using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), and constructing a phylogenetic tree using MEGAXI with the neighbor-joining tree method and the bootstrap method with 1000 repetitions. The results of DNA isolation obtained a concentration of 315.00 ng/μl and a purity value of 1.95 for oval noni and for round noni obtained a concentration*

*of 82.00 ng/μl and a purity value of 1.82. Amplification of the ITS area obtained a product measuring 693bp for oval noni and 691bp for round noni. *M. citrifolia* has homology with *Morinda citrifolia* var. *citrifolia* isolate BCMML10002 with homology percentage 99.70% and 99.12%. Analysis of the phylogenetic tree of *M. citrifolia* is not in the same branch with the comparison sequence, namely *C. caesia*. The ITS barcode shows six different nucleotide between oval and round noni, so the ITS barcode can be used to identify noni plant at the variety level.*

## ABSTRAK

Identifikasi tumbuhan dilakukan secara morfologi memiliki banyak kelemahan, dengan adanya perkembangan teknologi elektronika dan genetika saat ini telah dikembangkan suatu metode terbaru dalam identifikasi spesies tumbuhan dan hewan, yaitu teknologi Barcode DNA yang menggunakan potongan DNA pendek standar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan Barcode DNA Internal Transcribed Spacer (ITS) dalam mengidentifikasi 2 varietas tanaman mengkudu. Metode yang digunakan adalah isolasi DNA dengan menggunakan Wizard Genomic DNA Purification Kit, amplifikasi gen ITS menggunakan primer ITS4 dan ITS5, dideteksi panjang basa dengan elektroforesis gel agarose kemudian analisis sequens gen ITS menggunakan Basic Local Allignment Search Tool (BLAST), dan dikonstruksi pohon filogenetik menggunakan MEGAXI dengan metode neighbor-joining tree serta metode bootstrap sebanyak 1000 pengulangan. Hasil isolasi DNA diperoleh konsentrasi 315.00 ng/ $\mu$ l dan nilai kemurnian 1,95 untuk mengkudu lonjong dan untuk mengkudu bulat diperoleh konsentrasi 82.00 ng/ $\mu$ l dan nilai kemurnian 1,82. Amplifikasi daerah ITS diperoleh produk berukuran 693bp untuk mengkudu lonjong dan 691bp untuk mengkudu bulat. *M. citrifolia* memiliki homologi dengan *Morinda citrifolia* var. *citrifolia* isolat BCMML10002 dengan persentase homologi 99,70% dan 99,12%, , serta analisis pohon filogenetik menunjukkan *M. citrifolia* tidak berada dalam satu cabang dengan sequens pembanding yakni *C. caesia*. Barcode DNA ITS menunjukkan 6 basanuleotida yang berbeda antara mengkudu lonjong dan mengkudu bulat, sehingga barcode ITS dapat digunakan untuk identifikasi tanaman mengkudu untuk tingkat varietas.

## PENDAHULUAN

Mengkudu atau pace (*Morinda citrifolia*) merupakan tanaman obat tradisional yang banyak digunakan oleh masyarakat. Tanaman mengkudu merupakan tanaman pedesaan yang masih disepelekan oleh masyarakat dan tanaman ini belum sepenuhnya dibudidayakan (Badan pusat statistik, 2014). Beberapa spesies mengkudu yang ada di Indonesia adalah *M. citrifolia*, *M. eliptica*, *M. bracteata*, *M. Speciosa*, *M. linctoria* dan *M. oleifera*. Dari beberapa spesies tersebut, yang sudah dimanfaatkan di Indonesia adalah *Morinda citrifolia* dan *Morinda bracteata* (Puspayanti, Ariani and Damiami, 2014).

Identifikasi tanaman berdasarkan bentuk fisik dari suatu tanaman disebut dengan metode morfologi tanaman (Kalangi, Kamu and Kumaunang, 2014). Menurut Zein & Prawiradilaga (Saymsul Arifin Zein, Dewi Malia Prawira, 2013) identifikasi tanaman tidak mudah ditelusuri secara spesifik, jika hanya dilakukan identifikasi morfologi. Identifikasi secara morfologi membutuhkan seorang pakar taksonomi (Sunaryo *et al.*, 2015). Identifikasi morfologi hanya bisa dilakukan terhadap suatu tanaman yang utuh, jika tanaman berbentuk ekstrak, maka tanaman tersebut tidak dapat lagi dilakukan identifikasi secara morfologi. (RU Hikmah A Retnoningsih, 2016) menyatakan bahwa lingkungan dapat mempengaruhi karakter morfologi dari suatu tanaman.

Penelitian dibidang biokimia ditunjang dengan perkembangan teknologi genetika, misalnya teknologi *Deoxyribonucleic acid* (DNA) *barcode* yang didasarkan pada metode identifikasi spesies makhluk hidup (Hebert *et al.*, 2004). DNA *Barcode* merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi organisme dengan menggunakan potongan gen tertentu (Bangol, Momuat and Kumaunang, 2014). DNA *Barcode* dapat mempercepat identifikasi, biaya dapat dijangkau dan hasil yang akurat (Saymsul Arifin Zein, Dewi Malia Prawira, 2013).

DNA *barcode* tidak dipengaruhi oleh keadaan lingkungan sehingga hasil yang didapatkan bisa lebih akurat dan dapat dilakukan pada semua jenis jaringan (Nurkamila and Made, 2014). Proses identifikasi jenis tanaman diawali dengan mengisolasi DNA genom dan memperbanyak melalui PCR.

Menurut (Kress and Erickson, 2007), Terdapat 3 sequens DNA *Barcode* yaitu: inti (nDNA), kloroplas (cpDNA) dan mitokondria (mtDNA). Karakteristik dari sequen DNA *Barcode* berbeda-beda. DNA *Barcode* inti (nDNA) antara lain ITS (18S-26S) sedangkan DNA *Barcode* kloroplas antara lain *rbcL*, *NdhF*, *atpB*, *matK*, *rp116*. Menurut (Hollingsworth, Graham and Little, 2011), Gen maturase K (*matK*) dan ribolose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) merupakan DNA *Barcode* utama yang telah dikembangkan. Gen lain juga telah banyak digunakan yaitu: daerah spacer antara tRNA-His dan photosystem 11 protein D1 (*trnH-psbA* spacer) dan daerah inti internal transcribed spacer (ITS) (Chen *et al.*, 2010).

Perbedaan gen yang digunakan, gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasi, akan tetapi resolusinya rendah untuk dapat membedakan beberapa spesies yang berkerabat dekat. Sedangkan, gen *matK* mempunyai resolusi yang tinggi dan sequens yang lebih bervariasi, sehingga gen *matK* dinilai lebih baik dan lebih akurat dalam mengidentifikasi serta gen *matK* dapat membedakan sampai tingkat spesies (Kolondam *et al.*, 2012).

Ada gen lain yang dapat digunakan pada identifikasi tanaman yaitu: gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) (Techen *et al.*, 2014). Menurut (Zhang, Zhang and Li, 2013) dengan menggunakan ITS sebagai gen maka amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sequencing dua arah dan kemampuan diskriminasi lebih sempurna sehingga akan meningkatkan keberhasilan yang tinggi.

Menurut Wardi, E. S., (2020) *Barcode* DNA dengan menggunakan gen *rbcL* dan *matK* pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) (Roxb.)) mendapatkan hasil yang masih rendah, dalam penelusuran yang dilakukan baik itu gen *rbcL* maupun *matK* tidak ada yang dapat membedakan beberapa family Rubiaceae, gen ini hanya dapat membedakan sampai tingkat genus saja. Selanjutnya penelusuran dilanjutkan oleh (Zhang, Zhang and Li, 2013), penelusuran pada tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) (Roxb.)) dengan gen yang berbeda yaitu: *Internal Transcribed Spacer* (ITS) baik 1 maupun 2, hasil yang didapatkan yaitu amplifikasi PCR 100%. Dengan dilakukannya *Barcode* DNA menggunakan *Internal Transcribed Spacer* (ITS) diharapkan dapat memberikan kejelasan informasi karakter dari tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*).

## METODE PENELITIAN

### 1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2022 bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

### 2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L) sebanyak 2 helai masing-masing nya.

### 3. Identifikasi Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L)

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L) diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Andalas.

### 4. Isolasi DNA

Isolasi DNA tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) menggunakan metode KIT dengan menggunakan Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA), DNA diisolasi dari daun muda tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*).

DNA diisolasi dari Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Daun tanpa tulang daun diambil sebanyak 2 lembar, digerus dengan mortal sampai halus, lebih cepat lebih baik. Sekitar 300 mg jaringan yang sudah digerus dimasukkan ke dalam *tube eppendorf* 2mL yang steril. Ditambahkan 280µL *Cell Lysis Solution* ditambahkan 20µL *Protein Precipitation Solution*, divorteks sampai semuanya tercampur rata, kemudian diinkubasi pada suhu 56°C selama 60 menit dan dibolak-balik setiap 10 menit sekali. Ditambahkan *RNase* 20µL dan *Lysis solution* secukupnya, kemudian diratakan dengan cara membolak-balik selama 1 menit.

Disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 7000 rpm. Dilakukan pemisahan supernatan kedalam *tube eppendorf* 2 mL yang baru dan steril. Ditambahkan 400µL etanol dingin 50%, tabung dibolak-balik selama 10 menit. Dilakukan sentrifugasi kembali selama 5 menit dengan kecepatan 9000 rpm. Supernatan dipindahkan ke *tube eppendorf* 1,5ml baru yang steril. Untuk mendapatkan DNA pada dasar *tube eppendorf* dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Larutan dibuang dan pelet DNA dicuci dengan *wash buffer I* dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 3 menit lalu diambil bagian yang difiltrat lalu dicuci dengan *wash buffer II* sebanyak 500µL dan disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 10.000 rpm. DNA dikeringkan pada suhu ruangan selama 2 menit lalu disentrifugasi kembali selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 rpm, lalu ditambahkan dengan *elution buffer* 200µL. inkubasi pada suhu ruang selama 2 menit setelah itu disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm lalu didapatkan DNA.

### 5. PCR dan Elektroforesis

Setelah primer disusun dan disintesis, kemudian dilakukan kegiatan amplifikasi DNA yang telah diisolasi. Amplifikasi menggunakan primer yang telah didesain yang dilakukan dengan teknik PCR Gradient (Biometra Jerman). Reaksi PCR menggunakan *KOD Master Mix Blue*.

Amplifikasi DNA dan komposisi reaksi PCR gen ITS, bahan yang digunakan antara lain: My Taq™ HS Red Mix Bioline (12,5 µL); primer ITS-4 (1 µL); primer ITS-5 (1 µL); NFW (7,5 µL); sampel DNA (3 µL), semua bahan disentrifugasi, lalu di PCR dengan Program Running PCR antara lain: denaturasi awal (95°C) selama 1 menit; denaturasi lanjut (95°C) selama 15 detik; annealing (55,1°C) selama 15 detik; elongasi (72°C) selama 10 detik; elongasi akhir (72°C) selama 3 menit.

Sambil menunggu reaksi PCR selesai, dilakukan lah pembuatan gel agarose. Gel dibuat dengan melarutkan 1 gram bubuk di agarosa dalam 100 mL 0,5x TBE buffer kemudian dihomogenkan dan dipanaskan dengan microwave hingga mendidih. Selanjutnya dituangkan pada cetakan gel yang sebelumnya telah ditempatkan comb (sisir) untuk membuat lubang atau sumur dan didiamkan hingga gel mengeras. Gel agarosa yang sudah beku direndam secara submarine atau direndam dalam *running buffer* dan dicampurkan dengan gel red 5µL dan penanda berat molekul disatu sumur lainnya dengan 5µL DNA ladder 1 kb. Setelah lubang-lubang pada gel selesai diisi, tangki elektroforesis diberi aliran listrik. Sisi yang berisi hasil amplifikasi diberi arus negatif. Proses elektroforesis dijalankan selama 60 menit pada voltase 100 volt. Setelah proses *running* selesai, gel diamati diatas UV trans- iluminator dan didokumentasikan dengan kamera digital (Fatimi, 2010).

## 6. Sequencing DNA

Proses sequencing hasil PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan dengan mengirim sampel ke *Firstbase* Malaysia.

## 7. Analisis Barcode DNA

Kromatogram DNA hasil *sequencing* disunting menggunakan *software BioEdit*. Bagian awal DNA dihapus kira-kira 30 bp dan pembacaan nukleotida yang keliru diperbaiki berdasarkan tingkat keakuratan terbaca. Untuk keakuratan amplifikasi gen target diuji dengan memprediksi urutan panjang basa berdasarkan sekuens *Internal Transcribed Spacer (ITS)* dilakukan identifikasi melalui BLAST ke NCBI.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang digunakan diambil dari daerah di Limau Manis, Kota Padang, Sumatera Barat. Setelah pengambilan sampel dilakukan identifikasi menggunakan metode morfologi konvensional yang diidentifikasi dari bentuk fisiknya seperti bunga, daun, batang, cabang, dan biji. Identifikasi yang dilakukan di laboratorium Herbarium ANDA Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Hasil identifikasi yang didapatkan dari laboratorium Herbarium ANDA menunjukkan spesies *Morinda citrifolia* L dengan family *Rubiaceae*, surat identifikasi dengan nomor surat 085/K-ID/ANDA/II/2022.

Setelah sampel diidentifikasi kemudian baru dilakukan isolasi DNA. Bagian tumbuhan yang diambil adalah daun. Daun dipisahkan dengan tulang daun untuk memudahkan proses penggerusan, sebelum proses penggerusan, sampel daun mengkudu diperkecil dengan cara

dirajang agar ukuran partikelnya kecil lalu dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan dilemari es dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, setelah itu digerus sampai hancur lunak. Perhatikan kecepatan dan lamanya penggerusan karena penggerusan yang terlalu lama akan mengaktifkan enzim DNase sehingga menguraikan molekul-molekul. Hasil isolasi DNA yang didapatkan berupa larutan jernih tidak berwarna (bening). Isolate yang didapatkan dilakukan uji konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan *Nanodrop*.

Hasil dari isolasi DNA yang didapatkan dari tanaman mengkudu lonjong dan mengkudu bulat berupa larutan jernih tidak berwarna (bening).

Hasil isolasi DNA dinanodrop untuk menguji konsentrasi DNA dari tanaman mengkudu lonjong dan mengkudu bulat.

Dari Tabel 1. Hasil pengukuran tingkat kemurnian hasil isolasi DNA menunjukkan bahwa kedua sampel mengkudu (lonjong dan bulat) menghasilkan DNA yang murni, dimana mengkudu lonjong konsentrasinya 315,0 dengan kemurnian 1,957 dan untuk mengkudu bulat konsentrasinya 82,0 dengan kemurnian 1,822.

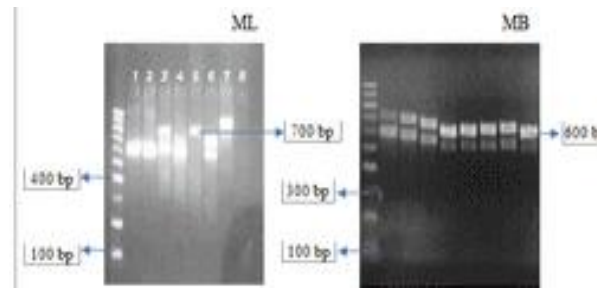
**Table 1.** Hasil Isolasi DNA tanaman mengkudu di *nanodrop* untuk menguji konsentrasi DNA

No	Sampel ID	Nucleic Acid Cone	Unit	260/280	Sampel type
1	DNA 1	315,0	ng/ $\mu\text{l}$	1,957	DNA
2	DNA 2	82,0	ng/ $\mu\text{l}$	1,822	DNA

Menurut Fatchiyah *et al.*, 2011 Hasil isolasi DNA murni (tidak terkontaminasi) sekitar 1,7–2,0 ng/ $\mu\text{l}$ , hasil isolasi DNA yang diperoleh tidak boleh melebihi rentang tersebut.

DNA hasil isolasi, lalu dilakukan amplifikasi dengan metode PCR menggunakan MyTaq<sup>TM</sup> HS Red Mix Bioline untuk sampel tanaman mengkudu. PCR digunakan untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dan primer dalam suatu *thermocycle* (Sutarno, 2016).

Setelah dilakukan PCR lalu dilakukan elektroforesis, tujuan dilakukan elektroforesis yaitu: untuk mengetahui ukuran dan bentuk dari pita DNA yang diperoleh, setelah itu divisualisasikan dengan menggunakan alat *UV-Transimulator*,



**Gambar 1. Visualisasi Gen ITS (*Internal Transcribed Spacer*)Ket: ML = Mengkudu Lojong, MB = Mengkudu Bulat**

Hasil visualisasi gen ITS dapat dilihat pada gambar 1, dimana untuk mengkudu lonjong terletak pada kisaran 700 bp dan mengkudu lonjong terletak pada kisaran 600-700 bp.

Dari hasil visualisasi gen ITS, lalu dilakukan sequencing. *sequencing* dilakukan di *FirstBase* Malaysia. Tujuan dari *sequencing* adalah untuk menentukan urutan basa DNA dalam segmen molekul DNA yang relatif pendek sehingga memungkinkan untuk mengetahui kode genetik dari molekul DNA.

```
TAAAAGTGTAAACAAGTTCTCCGGCTTATTGATATGCTTAAACTCAGCGGGTAATCCCGCCTGAC
CTGGGCTCGCGGTGGAGGGCTCCGAAGGGCTCCAAAGSTCGGAGAGTTCCCGTGGGGGTGGT
CGCGACGCTCTCGAGTTGATGAGTTCAACCACTCCCGTGAAGTCCCGGGCCGAGGACTCG
CATTAGGCCAGCCCGCCCGGGAAGGCAAGGGCCGCCAAGATCCGCCACCCACGTCTTCCCG
CGGGGGGGAGGAGGGGGGTGGGAGCGGATGGTGACGGCCAGGCAGACGTGGCCTCAGCCT
AATGCTTCCGGCGCAACTTGGTTCAAAACTCGATGGTTACGGGATTCTGCAATTCACACCA
AGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTATGATGCGAGAGCCTAGATAACGGTTGCGAGAGTGGTTT
TAGTTAAACGACCAACCGCCACCTCCGCCCGGGAAGCCCGGGGAGGCCCGCCGATCCGTTTG
AGTAGTCTTGGCCGCTCCCGCCCGAGAGTTTAGTTGGGATGGTGCCCGAAGCGCGGGGTTT
CCCTCGCCCGCCAGCACCCGAAAGTTTGTCAACGAGTTGGGGTCTGCCGGTCAAGGATTGACA
ATGATCCTTCGGAGGTTCACTACGGAAACCTTGTACGACTTTTACTTCC
GAAATAAAGTGTAAACAAGTCTCCGGCTTATTGATATGCTTAAACTCAGCGGGTAATCCCGCT
GACCTGGGGTCCGGTCCGAGGGCTCCGAAGGGCTCCAAAGTGGAGAGTTCCCGTGGGGG
TCGTCGGAGCGCTCTCGAGTTGATGAGTTCAACCACTCCCGTGAAGTCCCGGGCCGAGGA
CTCGCATTAGGCCAGCCCGCCCGGAGGGCAAGGGCCGCCAAGATCCGCCACCCAGTGGTT
CCCGCCCGGGCGAGGAGGGGGTGGCGACCCGATCCGTGACCCCGAGGAGAGTGGCCTCA
GGCTAATGGCTTCGGGGCGCAACTTGGTTCAAAACTCGATGGTTACGGGATTCTGCAATTCAC
ACCAAGTATCGCATTTCGCTAAGTCTTATGATGCGAGAGCCTAGATAACGGTTCCCGAGAGTC
GTTTTAGTTAAACGACCAACCGCCAGCTCCGCCCGGAGGCCCGGGGAGGCCCGCCGATCCG
TTTAGTAGTCTTGGCGGTCCCGCCCGAGAGTTTAGTTGGGATGTTCCCGGACCGCCGGG
GTTTCCTCGCCCGCCAGCACCCGAAAGTTTGTCAACGAGTTTCGGGTCTGCCGGTCAAGGATTGG
ACAATGATCCTTCGGAGGTTCACTACGGAAACCTTGTACGACTTTTACTTCCA
```

### Gambar 2. Urutan Basa Nukleotida Mengkudu Lonjong dan Mengkudu Bulat

Hasil *sequencing* pada gambar 2. didapatkan urutan basa nukleotida dari kedua sampel, untuk mengkudu lonjong didapatkan 693bp dan mengkudu lonjong 691bp.

Dari hasil *sequencing* yang didapatkan, lalu dilakukan pendaftaran di NCBI.



GenBank Send to

**Morinda citrifolia strain Lonjong small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

GenBank: ON705337.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

[Go to](#)

LOCUS ON705337 699 bp DNA linear PLN 13-JUN-2022  
DEFINITION *Morinda citrifolia* strain Lonjong small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION ON705337  
VERSION ON705337.1  
KEYWORDS :  
SOURCE *Morinda citrifolia* (Indian mulberry)  
ORGANISM *Morinda citrifolia*  
Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliopsida; eudicotyledons; Gunneridae;

**Morinda citrifolia strain Bulat small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

GenBank: ON705341.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

[Go to](#)

LOCUS ON705341 702 bp DNA linear PLN 13-JUN-2022  
DEFINITION *Morinda citrifolia* strain Bulat small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION ON705341  
VERSION ON705341.1  
KEYWORDS :  
SOURCE *Morinda citrifolia* (Indian mulberry)  
ORGANISM *Morinda citrifolia*  
Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliopsida; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetales; asterids; lamids; Gentianales; Rubiaceae;

**Gambar 3. Accesion Number Mengkudu Lonjong dan Mengkudu Bulat**

Dari pendaftaran di NCBI dapat dilihat pada gambar 3. didapatkan Accession number ON705337.1 untuk mengkudu lonjong.dan Accession number ON705341.1 untuk mengkudu bulat.

Hasil sequencing yang telah didapatkan selanjutnya dianalisis dengan melakukan BLAST urutan nukleotida dari hasil sequencing dengan data base yang tersedia di NCBI. Tujuan dari BLAST ini yaitu untuk mengetahui homologinya dengan spesies yang memiliki kemiripan urutan sekuen.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
Dacoma kopya (bah. kavit. kunyit) small ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1200	1200	100%	0.0	100.0%	499	ON705340.1
Dacoma kopya (bah. C. 4) cona 2.11S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1221	1221	97%	0.0	99.9%	1486	KKX32824.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1208	1208	97%	0.0	99.82%	1480	KKX32823.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1208	1208	97%	0.0	99.82%	1480	KKX32827.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1203	1203	97%	0.0	99.64%	1480	KKX32831.1
Dacoma kopya (bah. C. 2) cona 2.11S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.24%	1490	KKX32822.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.6%	1477	KKX32820.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.6%	1477	KKX32819.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.6%	1480	KKX32830.1
Dacoma kopya (bah. C. 10) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.6%	1480	KKX32821.1
Dacoma kopya (bah. C. 1) cona 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1197	1197	97%	0.0	99.6%	1477	KKX32817.1
Dacoma kopya (bah. C. 2) cona 2.11S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma kopya	1192	1192	97%	0.0	99.1%	1484	KKX32825.1

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
Dacoma zamburika (bah. kunyit) internal transcribed spacer 1 partial sequence 3.1S ribosomal RNA gene cp	Dacoma zamburika	1111	1111	100%	0.0	100.0%	619	ON705334.1
Dacoma zamburika (bah. 35.1) chena 1 internal transcribed spacer 1 partial sequence 3.1S ribosomal RNA p	Dacoma zamburika	977	977	99%	0.0	99.19%	612	6.812295.1
Dacoma zamburika (bah. 35.1) chena 1 internal transcribed spacer 1 partial sequence 5.8S ribosomal RNA p	Dacoma zamburika	977	977	99%	0.0	99.19%	612	6.812298.1
Dacoma zamburika (bah. 35.1) chena 3 internal transcribed spacer 1 partial sequence 5.8S ribosomal RNA p	Dacoma zamburika	972	972	99%	0.0	99.99%	612	6.812292.1
Dacoma zamburika (bah. 35.1) chena 3 internal transcribed spacer 1 partial sequence 5.8S ribosomal RNA p	Dacoma zamburika	972	972	99%	0.0	99.99%	612	6.812293.1
Dacoma zamburika (bah. 103.1) chena 1 internal transcribed spacer 1 partial sequence 5.8S ribosomal RNA p	Dacoma zamburika	966	966	99%	0.0	99.32%	612	6.812289.1
Dacoma amada (bah. 1) internal transcribed spacer 1 partial sequence 3.1S ribosomal RNA gene complete sequ	Dacoma amada	966	966	99%	0.0	99.32%	610	6.946230.1
Dacoma caesia (bah. Zk. 38.4) chena 1.18S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma caesia	966	966	99%	0.0	99.32%	614	6.934660.1
Dacoma amada (bah. 4) cona 2.11S ribosomal RNA gene partial sequence internal transcribed spacer 1	Dacoma amada	966	966	99%	0.0	99.32%	614	6.934672.1
Dacoma amada (bah. 1) internal transcribed spacer 1 partial sequence 5.8S ribosomal RNA gene complete sequ	Dacoma amada	961	961	99%	0.0	99.32%	613	6.946232.1
Dacoma amada (bah. 1) internal transcribed spacer 1 partial sequence 3.1S ribosomal RNA gene complete sequ	Dacoma amada	961	961	99%	0.0	99.32%	613	6.946229.1
Dacoma amada (bah. 1) internal transcribed spacer 1 partial sequence 3.1S ribosomal RNA gene complete sequ	Dacoma amada	961	961	99%	0.0	99.32%	613	6.946231.1

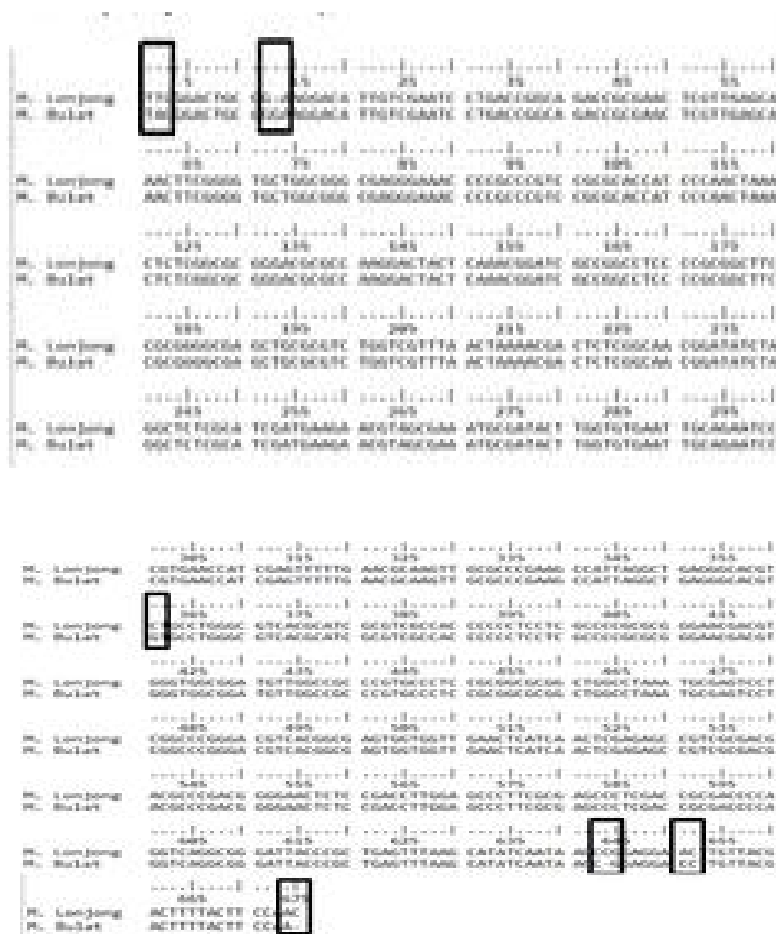
Gambar 4 . Hasil BLAST di NCBI

Menurut (Drancourt et al. 2000) homologi urutan yang 99% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies yang sama, sedangkan homologi 97% dapat

dinyatakan bahwa isolat yang dibandingkan berada pada genus yang sama dan homologi antara 89-93% menunjukkan famili yang berbeda.

Berdasarkan pernyataan diatas dapat disimpulkan bahwa tidak ada spesies yang berada pada family yang berbeda hanya saja spesies serta varietas yang berbeda. Dapat dilihat pada gambar 4. Didapatkan dengan jelas bahwa *sequens barcode* ITS sampel mengkudu lonjong menghasilkan tingkat kemiripan 99,70% dengan *Morinda citrifolia* var. *citrifolia* isolate BCMML10002, sampel mengkudu bulat menghasilkan tingkat kemiripan 99.12% dengan *Morinda citrifolia* var. *citrifolia* isolate BCMML10002.

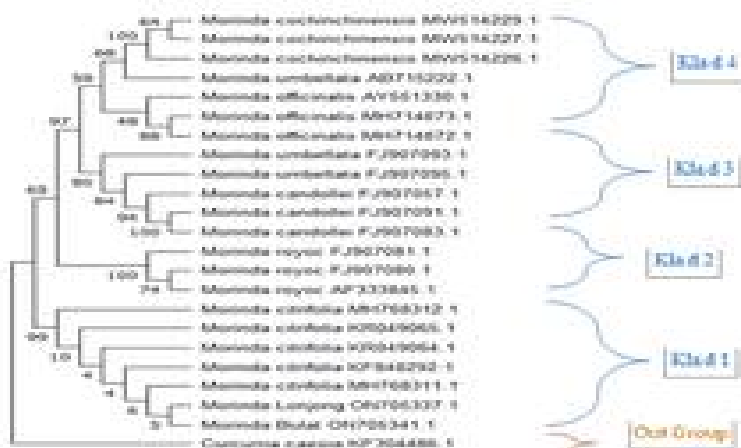
Setelah identifikasi melalui BLAST di NCBI, selanjutnya dilakukan analisis data genetik dengan melakukan pensejajaran *sequens* (*sequence alignment*). *Sequence alignment* yaitu proses mensejajarkan suatu *sequens* dengan satu atau beberapa *sequens* lain sehingga diperoleh tingkat kesamaan di antaranya (*sequence similarity*).



Gambar 5. Hasil Allignment Mengkudu Lonjong dengan Mengkudu Bulat

Pada gambar 5. Hasil allignment dari kedua sampel mengkudu menunjukkan ada perbedaan panjang fragmen DNA dan perbedaan urutan basa nukleotidnya yaitu: 2 bp, 13bp, 361 bp, 644 bp, 646 bp dan 675 bp.

Dari hasil allignment antara mengkudu lonjong dan mengkudu bulat Hasil sequens kemudian dibuat dalam format FASTA untuk konstruksi pohon filogenetik menggunakan software MEGAXI. Pada proses pembuatan pohon filogenetik sequens tanaman dari famili *curcuma* yaitu *curcuma caesia* digunakan sebagai *outgroup*. Dua puluh dua sequens gen ITS dari spesies dalam genus *Morinda* termasuk ke dalam *ingroup*.



Gambar 6. Hasil analisis pohon filogenetik

Berdasarkan hasil yang didapatkan di NCBI pada *morinda cochinchinensis* panjang fragmen DNA dengan rentang 650-720 bp, *morinda royoc* pada rentang 760-780, *morinda officinalis* 720-740 bp dan pada *morinda umbellata* pada rentang 720-790. Sedangkan pada penelitian untuk sampel *Morinda citrifolia* didapatkan panjang fragmen DNA dengan rentang 690-710 bp. Perbedaan panjang fragmen DNA disebabkan oleh adanya pengotor dalam proses amplifikasi fragmen DNA.

Berdasarkan gambar 6 dapat dilihat kelompok *in Group* terbagi dalam dua klad besar yakni klad I dan klad II serta klad kecil yakni klad III dan klad IV. Klad 1 terdiri dari 7 spesies yakni *M. citrifolia* (ON705341.1), *M. citrifolia* (ON705337.1), *M. citrifolia* (MH768311.1), *M. citrifolia* (KF848292.1), *M. citrifolia* (KR049064.1), *M. citrifolia* (KR049065.1), *M. citrifolia* (MH768312.1). jenis-jenis tersebut disatukan oleh banyaknya urutan sequens yang memiliki kemiripan yang sama. Pada klad ini memiliki hubungan yang dekat yang didukung dengan nilai *bootstrap* 99. Dijelaskan oleh Hidayat (2008) nilai *bootstrap* merupakan nilai yang digunakan untuk menguji seberapa baik set data model yang kita gunakan, jika dari *bootstrap* rendah maka sequens dari analisis untuk mendapatkan sebuah pohon filigenetik menjadi tidak dapat dipercaya. Ditambahkan oleh Muzzazinah

(2017) pohon filogenetik yang tinggi dan baik adalah pohon filogenetik dengan nilai bootstrap diatas 70.

Klad II terdiri dari 3 spesies yakni *M. royoc* (AF333845.1), *M. royoc* (FJ907080.1), *M. royoc* (FJ907081.1). Pada klad ini memiliki hubungan yang dekat yang didukung dengan nilai *bootstrap* 100. Klad III terdiri dari 5 spesies yakni *M. candollei* (FJ907083.1), *M. candollei* (FJ907091.1), *M. candollei* (FJ907057.1), *M. umbellata* (FJ907095.1), *M. umbellata* (FJ907093.1). Klad IV terdiri dari 7 spesies yakni *M. officinalis* (MH714872.1), *M. officinalis* (MH714873.1), *M. officinalis* (AY551330.1), *M. umbellata* (AB715222), *M. cochinchinensis* (MW514226.1), *M. cochinchinensis* (MW514227.1), *M. cochinchinensis* (MW514229.1)

Pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel *M. citrifolia* (ON705341.1), *M. citrifolia* (ON705337.1) tidak berada dalam satu cabang dengan sequens pembanding *C. caesia*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa 2 varietas tanaman mengkudu berhasil diisolasi menggunakan Wizard Genomic DNA Purification Kit, dibuktikan dengan terjadinya amplifikasi pada proses PCR, dengan primer ITS4 dan ITS5 menghasilkan amplifikasi pada ukuran 693bp untuk mengkudu lonjong dan 691bp untuk mengkudu bulat, dan terdapat 6 basanukleotida yang berbeda antara keduanya, sehingga barcode ITS dapat digunakan untuk mendeteksi 2 varietas tanaman mengkudu tersebut.

## KONFLIK KEPETINGAN

Seluruh penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- 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. et al. (2010) 'Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species', *PLoS ONE*, 5(1), pp. 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0008613.
- Hebert, P. D. N. et al. (2004) 'Identification of birds through DNA barcodes', *PLoS Biology*, 2(10). doi: 10.1371/journal.pbio.0020312.

- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W. and Little, D. P. (2011) 'Choosing and using a plant DNA barcode', *PLoS ONE*, 6(5). doi: 10.1371/journal.pone.0019254.
- Kalangi, C., Kamu, V. S. and Kumaunang, M. (2014) 'Barcode DNA Tanaman Leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) Berdasarkan Gen matK', *Jurnal MIPA*, 3(2), p. 108. doi: 10.35799/jm.3.2.2014.5861.
- Kolondam, B. J. et al. (2012) 'Barcode DNA berdasarkan Gen rbcL dan matK Anggrek Payus Limondok (*Phaius tancarvilleae*) (DNA Barcode of Payus Limondok Orchid (*Phaius tancarvilleae*) Based on the rbcL and matK genes)', *Jurnal Bios Logos*, 4(2). doi: 10.35799/jbl.2.2.2012.1041.
- Kress, W. J. and 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', *PLoS ONE*, 2(6). doi: 10.1371/journal.pone.0000508.
- Nurkamila, uul S. and Made, P. (2014) 'Dna Extraction From Orchid Herbarium Materials', *Jurnal Simbiosis*, 2(1), pp. 135–146.
- Puspayanti, P. R., Ariani, R. P. and Damiati (2014) 'Studi Eksperimen Pemanfaatan Buah Mengkudu Menjadi Dodol Beraroma Vanili dan Daun Pandan', *e-Journal Jurusan Pendidikan Kesejahteraan Keluarga*, 10(1). Available at: <https://ejournal.undiksha.ac.id/index.php/JPKK/article/download/4851/3665>.
- RU Hikmah A Retnoningsih, N. H. (2016) 'KERAGAMAN DURIAN BERDASARKAN FRAGMENTEN INTERNAL TRANSCRIBED SPACERS (ITS) DNA RIBOSOMAL MELALUI ANALISIS PCR-RFLP', 39(1), pp. 11–18.
- Saymsul Arifin Zein, Dewi Malia Prawira (2013) 'DNA Barcot Fauna Indonesia'.
- Sunaryo, W. et al. (2015) 'Exploration and identification of Lai Durian, new highly economic potential cultivars derived from natural crossing between *Durio zibethinus* and *Durio kutejensis* in East Kalimantan', *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 17(2), pp. 365–371.
- Zhang, L., Zhang, H. G. and Li, X. F. (2013) 'Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers', *Genetics and Molecular Research*, 12(1), pp. 196–207. doi: 10.4238/2013.January.24.12.