

**Barcode DNA Anthurium Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*)
berdasarkan gen *rbcL* dan *matK*
(The DNA Barcode of Anthurium Wave of Love (*Anthurium plowmanii*)
based on *rbcL* and *matK* Genes)**

Beivy J. Kolondam^{1)*}, Edy Lengkong²⁾, J. Polii-Mandang²⁾,
Semuel Runtuwuu²⁾ Arthur Pinaria²⁾

¹⁾Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado

²⁾Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado

*Email korespondensi: beivy_jk@yahoo.com

Diterima 3 Januari 2013, diterima untuk dipublikasikan 30 Januari 2013

Abstrak

*Metode standar untuk identifikasi spesies tumbuhan melalui barcode DNA telah direkomendasikan untuk menggunakan dua gen plastida yaitu *rbcL* dan *matK*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan tingkat kemiripan sekuens barcode DNA tanaman Anthurium Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) dibandingkan spesies kerabatnya yang sudah terdata dalam BOLD Systems dan untuk merekomendasi penggunaan barcode DNA yang bisa diandalkan dalam mengidentifikasi spesies ini. Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) digunakan dalam perbanyakan sekuens fragmen gen *rbcL* dan gen *matK* oleh primer universal yang tersedia. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa sampel tanaman *A. plowmanii* menghasilkan sekuens barcode *rbcL* yang mirip 100% (identik) dengan spesies *A. cubense*. Ini berarti barcode DNA *rbcL* tidak dapat digunakan untuk identifikasi tingkat spesies. Sekuens barcode *matK* sampel menunjukkan kemiripan 99,1% dengan *A. ravenii* yang berbeda dalam morfologi daun. Sekuens *matK* sampel bersifat unik diantara anggota-anggota genus *Anthurium* sehingga direkomendasikan penggunaannya untuk identifikasi sampai tingkat spesies.*

*Kata Kunci: barcode, *rbcL*, *matK*, *Anthurium plowmanii**

Abstract

*Standard method for plant species identification through DNA barcode has been recommended to use two plastids genes; the *rbcL* and *matK*. The aims of this research were to determine similarities in DNA barcode sequences of Anthurium Wave of Love (*Anthurium plowmanii*) with its close relatives that listed in BOLD Systems and to recommend the reliable DNA barcode for identification of this species. Polymerase Chain Reaction was employed to amplify *rbcL* and *matK* genes fragments using available universal primers. The result showed that *A. plowmanii* sample was 100% similar to *A. cubense*. For that reason, the *rbcL* gene is not a reliable for species identification. Sequence of *matK* barcode showed 99.1% in similarity with *A. ravenii* which has different leaf shape. The *matK* sequence of sample was unique among all listed *Anthurium* members, therefore, this barcode are recommended for plant identification to the species level.*

*Keywords: barcode, *rbcL*, *matK*, *Anthurium plowmanii**

PENDAHULUAN

Perkembangan metode identifikasi spesies telah dimulai dari proses identifikasi secara morfologi sampai pada identifikasi molekuler berdasarkan potongan DNA pendek yang disebut "barcode DNA" (Hebert *et al.* 2003). Barcode DNA memiliki fungsi-fungsi aplikatif misalnya untuk survei ekologi (Dick dan Kress 2009), identifikasi takson-takson kriptik (Lahaye *et al.* 2008), dan konfirmasi sampel-sampel tanaman obat (Xue dan Li 2011). The Consortium for the Barcode of Life (CBOL) merekomendasikan dua gen plastida yaitu *rbcL* dan *matK* sebagai barcode standar untuk identifikasi spesies tumbuhan (Hollingsworth *et al.* 2009).

Indonesia merupakan negara megabiodiversitas. Pendataan terhadap keragaman jenis tumbuhan di Indonesia harus terus dilakukan untuk mengimbangi laju hilangnya keragaman. Salah satu tanaman hias yang pernah populer di Indonesia adalah Anthurium Gelombang Cinta atau Anthurium Wave of Love (*Anthurium plowmanii*). Istilah "Gelombang Cinta" diberikan karena bentuk daunnya yang bergelombang (Pulungan dan Wiendi 2010). Genus Anthurium merupakan salah satu anggota dari famili Araceae. Mattjik (2010) menjelaskan bahwa Anthurium memiliki daya tarik dan nilai ekonomis karena daunnya yang beragam dalam bentuk, ukuran, maupun warna. Anthurium digunakan sebagai tanaman hias ruangan di perumahan, perkantoran, tempat perbelanjaan, rumah sakit, hotel, maupun di bandar udara.

Dalam beberapa topik penelitian multidisiplin, barcode DNA adalah salah satu instrumen yang perlu disokong oleh ketersediaan database untuk identifikasi. Berdasarkan penelusuran dalam BOLD (Barcode of Life Database)

Systems yang terhubung dengan database sekuens dari beberapa negara, data sekuens DNA barcode standar (*rbcL* dan *matK*) banyak spesies belum tersedia atau belum lengkap untuk kedua gen barcode. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat kemiripan sekuens DNA barcode *A. plowmanii* dengan spesies kerabatnya yang sudah terdata dalam BOLD Systems dan untuk merekomendasi penggunaan barcode DNA yang bisa diandalkan dalam mengidentifikasi spesies ini.

METODE

Ekstraksi DNA Total Tanaman

DNA total tanaman yang mencakup materi genetik inti, mitokondria, dan kloroplas (plastida), diekstrak dari potongan kecil lembaran daun satu tanaman *A. plowmanii* menggunakan *Multisource Genomic DNA Miniprep Kit* (Axygen) sesuai petunjuk manual. Modifikasi dilakukan untuk memaksimalkan ekstraksi DNA kloroplas yaitu dengan meningkatkan waktu lisis sel dari 30 menit menjadi satu jam dalam suhu 60°C.

Polymerase Chain Reaction(PCR)

Reaksi PCR dalam penelitian ini menggunakan *5X Ready-to-Load Master Mix* (Solis Biotec). Dalam setiap reaksi 50 µl memiliki 1.25 Unit *Taq* DNA polimerase, 0,2 mM masing-masing dNTPs, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,2 mM masing-masing primer, dan kira-kira 0,6 µg DNA total sampel. Untuk primer digunakan primer universal yaitu *rbcLaF* (5'-ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC-3') dan *rbcLaR* (5'-GTA AAA TCA AGT CCA CCR CG-3') untuk amplifikasi gen *rbcL* (Kress dan Erickson 2007) serta untuk gen *matK* digunakan *matK-3F*

(5'-CGT ACA GTA CTT TTG TGT TTA CGA G-3') dan matK-1R (5'-ACC CAG TCC ATC TGG AAA TCT TGG TTC-3').

Pengaturan suhu *thermocycler* dimulai dengan denaturasi awal pada 95°C selama 2 menit kemudian dilanjutkan 35 siklus [95°C 30 detik, X°C 30 detik, dan 72°C 1 menit]. Suhu X untuk perlekatan primer (*annealing*) yang disarankan Stoeckle *et al.* (2011) adalah 55°C untuk *rbcL* dan 52°C untuk *matK*. DNA hasil PCR divisualisasi menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% dan sisanya dikirim untuk sekuensing ke penyedia jasa sekuensing bersama primer. Proses sekuensing dilakukan sebanyak dua kali dengan arah yang berbeda (*forward* dan *reverse*) sesuai primer yang ada.

Analisis Data

Kromatogram yang diperoleh dari hasil sekuensing disunting menggunakan software Geneious v5.6 (Drummond *et al.* 2012). Bagian awal DNA dihapus kira-kira 30 bp dan pembacaan nukleotida yang keliru diperbaiki berdasarkan tingkat keakuratan terbaca. Terhadap hasil sekuensing menggunakan primer *reverse* dilakukan proses *reverse and complement* kemudian dipadukan dengan hasil sekuensing primer *forward* menggunakan MUSCLE (*Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*) oleh Edgar (2004).

Keakuratan amplifikasi gen target diuji dengan memprediksi urutan asam amino berdasarkan masing-masing sekuens *rbcL* dan *matK*. Hal ini bertujuan untuk melihat adanya kodon stop (UAA, UAG atau UGA) di tengah sekuens gen-gen aktif tersebut sehingga diketahui pasti bahwa yang teramplifikasi bukan gen semu (*pseudogene*). Potongan gen *rbcL* dan *matK* diidentifikasi lewat BOLD (Barcode of Life Database)

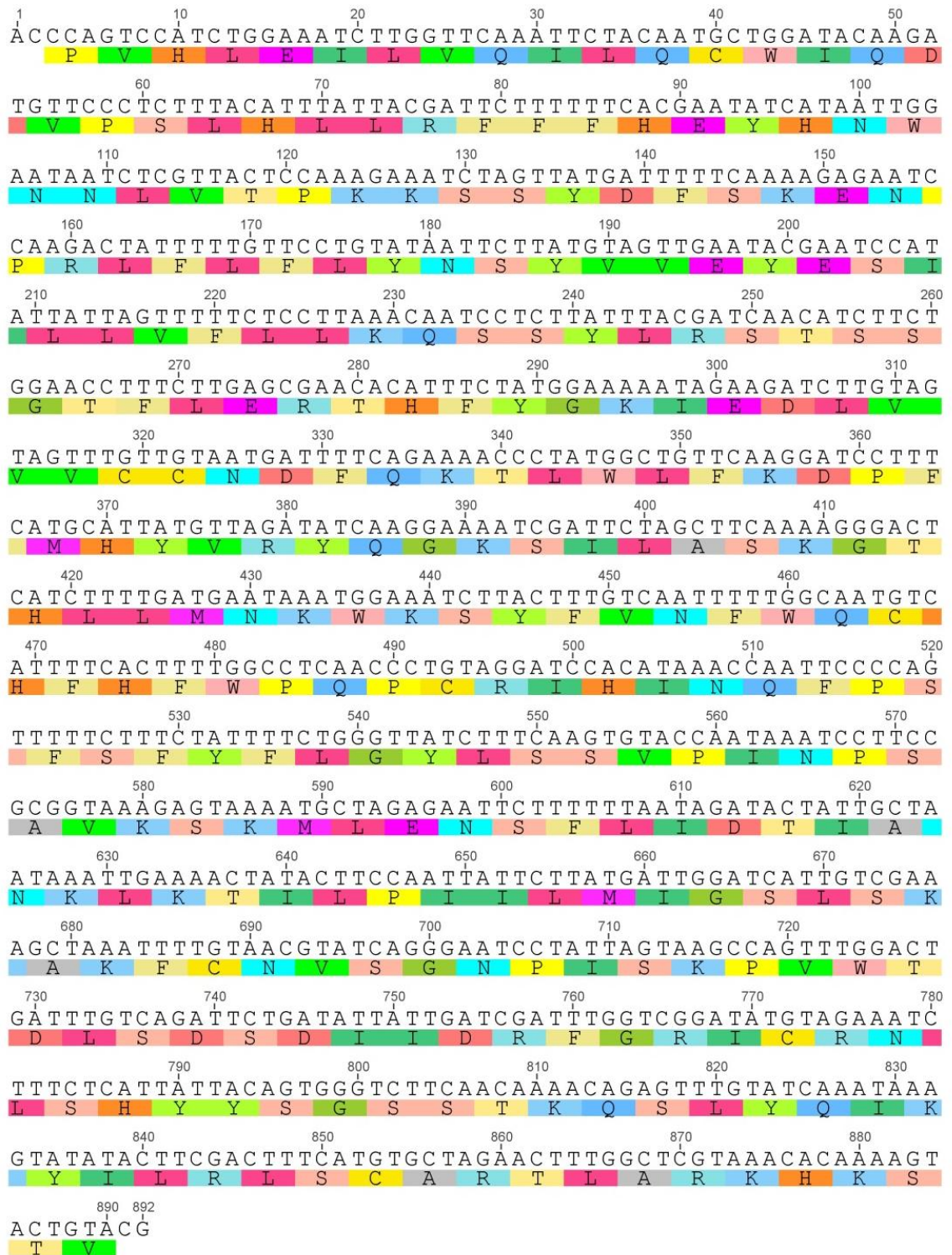
Penelusuran sekuens barcode *rbcL* sampel tanaman Gelombang Cinta pada database BOLD Systems ternyata menghasilkan kemiripan 100% (identik) dengan spesies *Anthurium cubense*. Perbandingan *A. plowmanii* secara morfologi dan *A. cubense* yang dilakukan oleh pakar yang sama yaitu Dr. Thomas Croat (Lucas, 2008; Lucas, 2009). Pakar ini menggambarkan bahwa kedua spesies berbagi kemiripan ciri morfologi sehingga dikategorikan berkerabat dekat (satu genus), yaitu adanya ciri tepi daun bergelombang yang dimiliki keduanya. Systems (www.boldsystems.org) (Ratnasingham dan Hebert 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sekuensing produk PCR dari kedua gen menghasilkan kromatogram yang berkualitas tinggi. Nilai HQ% kromatogram yang terbaca dalam Geneious v5.6 adalah >86.8% untuk *rbcL* dan >94.0% untuk *matK* (data tidak ditampilkan). Panjang pita DNA teramplifikasi yaitu 599 bp untuk sekuens *rbcL* dan 889 bp untuk sekuens *matK*. Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa tidak ada kodon stop yang terbentuk di tengah-tengah sekuens. Hal ini berarti hasil amplifikasi DNA yang dilakukan bersifat valid mengingat kedua gen tersebut adalah fragmen yang termasuk dalam bingkai bacaan terbuka (*open reading frame*) dari enzim-enzim fotosintesis. Gen *rbcL* menggunakan frame 1 (pembacaan dimulai asam dari amino pertama) sedangkan gen *matK* menggunakan frame 3 (pembacaan dimulai dari asam amino ketiga).



Gambar 1. Sekuens DNA barcode *rbcL* dan Asam Amino Tanaman Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*)



Gambar 2. Sekuens DNA *barcode matK* dan Asam Amino Tanaman Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*)

Processid	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Score	Similarity	E-Value
MHPAC943-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>cubense</i>	552	100	0
MHPAC941-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>cubense</i>	552	100	0
MHPAC942-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>cubense</i>	552	100	0
CALAK714-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>gracile</i>	550	99.82	0
MHPAA262-08	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium		550	99.82	0
MHPAD554-09	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>spectabile</i>	550	99.82	0
MHPAC1615-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ravenii</i>	548	99.64	0
MHPAC1614-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ravenii</i>	548	99.64	0
MHPAF736-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ravenii</i>	548	99.64	0
MHPAF737-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ravenii</i>	548	99.64	0
GBV81007-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>scherzerianum</i>	546	99.46	0
MHPAD3162-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ochranthum</i>	546	99.46	0
MHPAD3399-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ochranthum</i>	546	99.46	0
MHPAD3398-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ochranthum</i>	546	99.46	0
MHPAF195-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>interruptum</i>	546	99.46	0
MHPAF127-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>bakeri</i>	546	99.46	0
MHPAF072-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>bakeri</i>	546	99.46	0
MHPAD3156-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>scandens</i>	546	99.46	0
MHPAD3155-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>scandens</i>	546	99.46	0
MHPAD3396-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ochranthum</i>	544	99.45	0

Record: CALAK714-10, Identified As: *Anthurium gracile*
 Score: 550, E-Value: 0, Identity: 551/552 (100%), Gaps:

```

Query      AGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAGACAAAAGATACTGATATCTTGGCAGCA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TTCGGAGTAACCTCCTCAACCCGGAGTTCCGCCCTGAAGAGGGAGGGGCTGCAGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTG
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAGGACGATGCTACCACATTGAAGCCGTTGTTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTGAAGAAGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTTGGGTAATGTATTGGGTTTAAAGCT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TTACGAGCTCTACGCTGGAGGATTGCGAATTCCTACTTCTTATCCAAAACCTTCCAAGGCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      GATAAATTGAACAAGTACGGTCGTCCTTATTGGGATGTACGATTAACCAAATAGGATTATCCCGAAAAACTACGGTAGACGGGTT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TATGAATGTCTC
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
    
```

Record: MHPAD554-09, Identified As: *Anthurium spectabile*
 Score: 550, E-Value: 0, Identity: 551/552 (100%), Gaps:

```

Query      AGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAGACAAAAGATACTGATATCTTGGCAGCA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TTCGGAGTAACCTCCTCAACCCGGAGTTCCGCCCTGAAGAGGGAGGGGCTGCAGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTG
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAGGACGATGCTACCACATTGAAGCCGTTGTTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTGAAGAAGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTTGGGTAATGTATTGGGTTTAAAGCT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TTACGAGCTCTACGCTGGAGGATTGCGAATTCCTACTTCTTATCCAAAACCTTCCAAGGCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      GATAAATTGAACAAGTACGGTCGTCCTTATTGGGATGTACGATTAACCAAATAGGATTATCCCGAAAAACTACGGTAGACGGGTT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TATGAATGTCTC
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
    
```

Gambar 3. Penelusuran BOLD Systems untuk Sekuens *rbcl* Tanaman Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) Tanggal 8 Agustus 2012

Processid	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Score	Similarity	E-Value
CALAK675-10	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>schlechtendalii</i>	766	98.98	0
GBVA1608-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>acaule</i>	761	97.51	0
MHPAC1615-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>ravenii</i>	758	99.1	0
MHPAA646-08	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium		758	99.1	0
MHPAA513-08	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>brenesii</i>	756	98.97	0
MHPAD554-09	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>spectabile</i>	756	99.09	0
MHPAF127-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>bakeri</i>	754	98.84	0
MHPAF071-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>bakeri</i>	754	98.84	0
MHPAF072-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>bakeri</i>	754	98.84	0
MHPAF195-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium	<i>interruptum</i>	750	98.58	0
MHPAA618-08	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Anthurium		750	98.58	0
GBVA1944-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>multiflora</i>	743	94.42	0
GBVA1953-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>sp.SYW-2010a</i>	741	94.31	0
GBVA1949-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>pyrrhias</i>	741	94.31	0
GBVA1946-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>multinervia</i>	741	94.31	0
GBVA1943-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>multiflora</i>	741	94.31	0
GBVA1942-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>multiflora</i>	741	94.31	0
GBVA1940-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>multiflora</i>	741	94.31	0
GBVA1931-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>jepomii</i>	741	94.31	0
GBVA1924-11	Magnoliophyta	Liliopsida	Alismatales	Araceae	Schismatoglottis	<i>corneri</i>	741	94.31	0

Record: CALAK675-10, Identified As: Anthurium schlechtendalii

Score: 766, E-Value: 0, Identity: 777/785 (99%), Gaps:

```

Query      TTCCTCTTTACATTATTACGATTTCTTTTTTCAGCAATATCATAAATGGAATAATCTCGTTACTCCAAGAAATCTAGTTATGATTTTT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      CAAAAGAGAAATCCAGACTATTTTGTTCCTGTATAAATCTTATAGTGTGAATACGAAATCCATATTTATAGTTTTTCCTTAAACAAT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      CCTCTATTACGATCAACATCTTCTGGAACCTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAAAGATCTTGTAGTGTGTTGTA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      ATGATTTTCAGAAAACCCCTATGGCTGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCGATTCTAGCTCAAAGGGA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      CTCATCTTTGATGAATAAATGGAAATCTTACTTTGTCAATTTTTGGCAATGTCATTTTCACTTTTGGCCTCAACCCCTGAGGATCCACA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TAAACCAATCCCCAGTTTTTCTTCTATTTCTGGGTTATCTTTCAGTGTACCAATAAATCCTTCCGCGTAAAGAGTAAAATGCTAG
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      AGAATCTTTTTTAATAGATACTATTGCTAATAAATGAAAACATACTTCCAATTTCTTATGATTGGATCATTTGTCGAAAGCTAAAT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TTTGTAACGTATCAGGAAATCCTATTAGTAAGCCAGTTTGGACTGATTTGTCAGATCTGATATTATGATCGATTTGGTCGGATATGTA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      GAAATCTTCTCATTATTACAGTGGGCTTCAACAAAACAGAGTTGTATCAAATAAAGTATATA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
    
```

Record: MHPAC1615-11, Identified As: Anthurium ravenii

Score: 758, E-Value: 0, Identity: 768/775 (99%), Gaps:

```

Query      CCCCTTTACATTTATTACGATTTCTTTTTTCAGCAATATCATAAATGGAATAATCTCGTTACTCCAAGAAATCTAGTTATGATTTTTCA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      AAAGCAATCCAAGACTATTTTGTTCCTGTATAAATCTTATAGTGTGAATACGAAATCCATATTTATAGTTTTTCCTTAAACAATCC
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TCTATTACGATCAACATCTTCTGGAACCTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAAAGATCTTGTAGTGTGTTGTAAT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      GATTTTCAGAAAACCCCTATGGCTGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCGATTCTAGCTCAAAGGGACT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      CATCTTTGATGAATAAATGGAAATCTTACTTTGTCAATTTTTGGCAATGTCATTTTCACTTTTGGCCTCAACCCCTGAGGATCCACATA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      AACCAATCCCCAGTTTTTCTTCTATTTCTGGGTTATCTTTCAGTGTACCAATAAATCCTTCCGCGTAAAGAGTAAAATGCTAGAG
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      AATCTTTTTTAATAGATACTATTGCTAATAAATGAAAACATACTTCCAATTTCTTATGATTGGATCATTTGTCGAAAGCTAAATTT
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      TGTACGTATCAGGAAATCCTATTAGTAAGCCAGTTTGGACTGATTTGTCAGATTTCTGATATTATGATCGATTTGGTCGGATATGTAGA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
Query      AATCTTCTCATTATTACAGTGGGCTTCAACAAAACAGAGTTGTATCAAATAA
Sbjct     Mached sequence is private and can't be displayed.
    
```

Gambar 4. Penelusuran BOLD Systems untuk Sekuens *matK* Tanaman Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) Tanggal 8 Agustus 2012

Mempertimbangkan sekuens *rbcL* spesies lain, tingkat kemiripan sampel tanaman Gelombang Cinta juga sangat tinggi dengan *A. gracile* dan *A. spectabile* yaitu 99,82% untuk keduanya. Perbandingan antara sekuens *rbcL* kedua spesies ini juga menunjukkan kemiripan 100% (identik) satu sama lain (Gambar 3). Kemungkinan yang terjadi adalah barcode *rbcL* memiliki kemampuan pembeda yang lemah. Kemungkinan lain yaitu studi-studi sebelumnya yang mengidentifikasi spesies sama dengan penamaan berbeda.

Perbandingan sekuens *matK* sampel dalam database menghasilkan kemiripan yang tinggi dengan sesama anggota genus *Anthurium* tetapi tidak ada yang identik (Gambar 4). Kemiripan tertinggi yaitu dengan *A. ravenii* (99,1%) sedangkan skor tertinggi yaitu dengan *A. schlechtendalii* (766). Nilai skor ini diperoleh dari jumlah nukleotida yang tercakup dalam perbandingan.

Penelusuran kemiripan sekuens barcode *matK* dilakukan melalui perbandingan dengan *A. plowmanii*. Tumbuhan *A. ravenii* memiliki perbedaan yang signifikan (bentuk daun yang segitiga) apabila dibandingkan *A. plowmanii* (Croat 2012). Tumbuhan *A. schlechtendalii* memiliki bentuk daun yang mirip *A. plowmanii*, bahkan awalnya dianggap sebagai variasi dari spesies ini (Lucas 2006). Berdasarkan Gambar 4, tingkat kemiripan antara anggota genus *Anthurium* dalam BOLD termasuk tinggi yaitu >98,58%. Terdapat perbedaan besar dengan genus terdekat yang terdata yaitu *Schismatoglottis* (94,42% untuk *Schismatoglottis multiflora*). Dari analisis perbedaan morfologi dan sekuens barcode *matK* antara spesies-spesies ini menunjukkan adanya keunikan barcode yang bisa diandalkan untuk identifikasi *A. plowmanii*.

Lemahnya kemampuan diskriminasi barcode *rbcL* telah ditunjukkan oleh beberapa publikasi sebelumnya (Hollingsworth *et al.* 2009; Hollingsworth *et al.* 2011). Walaupun kemampuan diskriminasi gen ini tidak lebih baik dari penanda lain, barcode *rbcL* memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi yang tinggi untuk banyak spesies dan mudah disekuensing (Hollingsworth *et al.* 2011). Barcode *rbcL* dalam penelitian ini mampu membedakan sampel hanya sampai pada tingkat genus saja.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa sekuens barcode *rbcL* sampel tanaman *A. plowmanii* menghasilkan kemiripan 100% (identik) dengan spesies *A. cubense* sehingga barcode ini tidak dapat digunakan untuk identifikasi sampai pada tingkat spesies. Sekuens barcode *matK* sampel bersifat unik sehingga mampu digunakan untuk identifikasi sampai tingkat spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- Croat TB (2012) *Anthurium ravenii* Croat & Baker. <http://www.aroid.org/genera/anthurium/calomystrium/ravenii.php>. Diakses pada 9 Agustus 2012
- Dick CW, Kress WJ (2009) Dissecting tropical plant diversity with forest plots and a molecular toolkit. *Bioscience* 59: 745-755
- Drummond AJ, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M, Heled J, Kearse M, Markowitz S, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T, Wilson A (2012) Geneious v5.6. Biomatters. New Zealand

- Edgar RC (2004) MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acid Res* 32 (5): 1792-1797
- Hebert PDN, Cywinska NA, Ball SL, de Waard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Roy Soc B-Biol Sci* 270: 313–321
- Hollingsworth PM, Graham SW, Little DP (2011) Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE* (6): e19254
- Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham R (2009) A DNA barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 12794-12797
- Kress WJ, Erickson DL (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): e508
- Lahaye R, Van der Bank M, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, Gigot G, Maurin O, Duthoit S, Barraclough TG, Savolainen V (2008) DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc Nat Acad Sci* 105(8): 2923-2928
- Lucas S (2006) *Anthurium schlechtendalii*. <http://www.exoticrainforest.com/Anthurium%20schlechtendalii%20homepage.html> Diakses pada 10 Agustus 2012
- Lucas S (2008) *Anthurium plowmanii* Croat. <http://www.exoticrainforest.com/Anthurium%20plowmanii%20pc.html> Diakses pada 10 Mei 2012
- Lucas S (2009) *Anthurium cubense* Croat. <http://www.exoticrainforest.com/Anthurium%20cubense%20pc.html> Diakses pada 9 Agustus 2012
- Mattjik NA (2010) Budidaya bunga potong dan tanaman hias. IPB Press. Bogor
- Pulungan SI, Wiendi NMA (2010) Induksi keragaman genetik tanaman *Anthurium wave of love* (*Anthurium plowmanii* Croat) dengan radiasi sinar gamma dari ⁶⁰Co secara *in vitro*. Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB. Bogor
- Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: The barcode of life data system. *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364
- Stoeckle MY, Gamble CC, Kirpekar R, Young G, Ahmed S, Little DP (2011) Commercial teas highlight plant DNA barcode identification successes and obstacles. *Sci Rep* 1(42): 1-7
- Xue CY, Li DZ (2011) Use of DNA barcode *sensu lato* to identify traditional Tibetan medicinal plant *Gentianopsis paludosa* (Gentianaceae). *J Sys Evol* 49 (3): 267-270