

Aplikasi DNA Barcoding dan Marker Genetik untuk Identifikasi Spesies Tanaman Herbal: Studi Kasus pada Genus *Uncaria*

Fatiha Kamilah

fatihakamilah@apps.ipb.ac.id

Identifikasi spesies tanaman secara cepat dan akurat merupakan tantangan besar bagi para ahli botani, ekolog, dan spesialis forensik tumbuhan. Salah satu pendekatan modern yang digunakan untuk tujuan ini adalah DNA barcoding, yaitu metode yang memanfaatkan sekuens DNA pendek (sekitar 400–800 pasangan basa) yang dapat dengan mudah diisolasi dan dikarakterisasi dari hampir seluruh spesies tanaman di dunia. Dengan mengintegrasikan genetika molekuler, teknologi sekuensing, dan bioinformatika, DNA barcoding memiliki potensi besar dalam mempercepat penemuan dan penamaan ribuan spesies tanaman yang belum teridentifikasi, terutama di wilayah tropis. Awalnya, konsep DNA barcoding dikembangkan untuk identifikasi spesies hewan. Penerapannya pada tanaman tidak langsung diterima oleh komunitas botani, hingga beberapa tahun kemudian, seiring dengan kemajuan pesat dalam studi genom plastid, mitokondria, dan nukleus. Saat ini, empat marker genetik yang telah disetujui sebagai standar DNA barcode untuk tanaman adalah *rbcL*, *matK*, *trnH-psbA*, dan *ITS*.

Secara umum, DNA barcode digunakan untuk mengidentifikasi spesies berdasarkan pohon filogenetiknya. Metode ini memperluas kemampuan dalam mendiagnosis spesies tanaman, termasuk spesimen dalam bentuk buah, biji, atau bahkan bagian yang telah rusak. DNA barcode kini diakui secara universal sebagai salah satu pendekatan identifikasi spesies yang andal. Selain membantu dalam mengidentifikasi spesies baru terutama spesies kriptik metode ini juga berperan penting dalam bidang taksonomi, seperti mengidentifikasi spesies invasif dan spesies yang terancam punah. Selain itu, DNA barcoding juga digunakan untuk menguji keaslian dan kemurnian produk botani, termasuk obat-obatan herbal komersial dan suplemen makanan (Nicholas dan Robert, 2015).

Proses penerapan DNA barcoding untuk identifikasi tanaman terdiri dari dua langkah utama. Langkah pertama adalah membangun perpustakaan DNA barcode dari spesies yang telah diketahui, dan langkah kedua adalah mencocokkan sekuens DNA barcode dari sampel yang tidak diketahui dengan data dalam perpustakaan tersebut. Pada tahap awal, diperlukan peran ahli taksonomi untuk memilih satu atau lebih individu dari setiap spesies sebagai sampel referensi dalam pembuatan perpustakaan DNA barcode. Jaringan tanaman dapat diperoleh dari spesimen yang telah disimpan di herbarium atau diambil langsung dari spesimen hidup di lapangan yang telah diberi label identifikasi. Setelah perpustakaan DNA barcode tersusun secara lengkap, maka sampel tak dikenal dapat dibandingkan dengan data tersebut untuk proses identifikasi. Dalam pengembangan tanaman secara konvensional, keragaman genetik biasanya didiagnosis berdasarkan pengamatan fenotipik. Namun, dengan kemajuan teknologi biologi molekuler, variasi genetik kini dapat diidentifikasi secara langsung melalui analisis DNA, yang mencerminkan perubahan genetik dan dampaknya terhadap fenotipe.

Setelah DNA diekstraksi dari jaringan tanaman, variasi dalam sampel dapat dianalisis menggunakan teknik seperti PCR (*Polymerase Chain Reaction*) atau hibridisasi, serta pemisahan hasilnya melalui elektroforesis gel atau akrilamid, yang memungkinkan identifikasi molekul berdasarkan ukuran, komposisi kimia, atau muatannya. Dalam hal ini, penanda genetik (*genetic markers*) digunakan untuk melacak dan menandai variasi genetik dalam sampel DNA. Marker ini mengandung komponen biologis yang mencerminkan variasi alel, dan dapat dimanfaatkan sebagai probe atau penanda untuk melacak jaringan, sel, nukleus, kromosom, atau gen tertentu. Polimorfisme genetik merupakan representasi dari keragaman alel antar individu dan menjadi dasar dalam mempelajari keturunan serta variasi genetik suatu populasi. Marker DNA secara umum diklasifikasikan ke dalam dua kategori utama, yaitu: marker berbasis hibridisasi, seperti RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), dan marker berbasis PCR, seperti RAPD, ALP, SSRs, AFLP, SCARs, STS, SPLAT, VNTRs, DAF, SNPs, STRs, dan SSCP (Mojtaba dan Mehdi, 2015).

Salah satu aplikasi penting dari DNA barcoding adalah dalam identifikasi tanaman herbal, seperti yang dilakukan pada spesies *Uncaria* di Tiongkok. Genus *Uncaria* diketahui tersebar luas di wilayah tropis Asia dan Australia, dengan 12 spesies yang dilaporkan tumbuh di Tiongkok. Seluruh spesies tersebut telah lama digunakan sebagai bagian dari pengobatan tradisional masyarakat Tiongkok. Namun, dalam buku Pharmacopoeia Tiongkok, hanya lima dari dua belas spesies yang tercantum. Tingkat kemiripan morfologi yang tinggi di antara spesies *Uncaria* menyebabkan kesulitan dalam proses identifikasi, sehingga diperlukan pendekatan molekuler seperti DNA barcoding. Dalam studi yang dilakukan oleh Zhong dkk. (2015), digunakan lima lokus DNA yang sebelumnya telah diusulkan sebagai DNA barcode tanaman, yaitu *rbcL*, *matK*, *trnH-psbA*, ITS, dan ITS2, untuk mengevaluasi dan memverifikasi spesies *Uncaria*. Dari 12 spesies, 10 spesies *Uncaria* diambil sampelnya, lalu DNA diekstraksi menggunakan DNA isolation kit. Fragmen DNA spesifik kemudian diamplifikasi melalui PCR menggunakan kelima marker tersebut, dan hasil sekuens dianalisis lebih lanjut.

DNA barcode yang ideal harus memenuhi beberapa kriteria: memiliki variabilitas genetik antarspesies (interspesifik) yang tinggi namun rendah pada tingkat dalam spesies (intraspesifik), sekuens tidak terlalu panjang agar mudah diamplifikasi, serta mengandung wilayah konservatif untuk penggunaan primer universal. Dari hasil analisis, ditemukan bahwa ITS2 merupakan DNA barcode yang paling sesuai untuk membedakan spesies *Uncaria*. Lokus *matK*, meskipun sering direkomendasikan sebagai marker standar untuk tanaman, menunjukkan tingkat amplifikasi PCR yang rendah (hanya 37%), sehingga dianggap kurang cocok untuk identifikasi spesies *Uncaria*. Tiga marker lain—ITS, *rbcL*, dan *psbA-trnH*—memiliki tingkat amplifikasi yang cukup tinggi, yaitu masing-masing 66,7%, 70,4%, dan 64,8%, dengan keberhasilan sekuensing mencapai 100%. Namun, ketiganya memiliki tingkat keautentikan yang rendah karena sekuens yang dihasilkan sangat mirip. Sebaliknya, ITS2, yang telah diusulkan sebagai DNA barcode universal untuk tanaman dan hewan, menunjukkan tingkat amplifikasi 100% dan menghasilkan nilai autentikasi tertinggi dalam mengidentifikasi spesies *Uncaria*, dengan tingkat kekerabatan mencapai 94% berdasarkan analisis pohon filogenetik.

Tanaman *Uncaria*, yang dikenal dalam pengobatan tradisional Tiongkok sebagai “Gou-teng”, secara luas digunakan untuk mengatasi penyakit kardiovaskular, khususnya hipertensi. Namun, menipisnya ketersediaan spesies *Uncaria* dan variasi kandungan bioaktif antar spesies

menimbulkan kebingungan di masyarakat, karena kesalahan identifikasi dapat memengaruhi efektivitas terapeutik. Oleh karena itu, metode identifikasi yang akurat sangat diperlukan. Pendekatan morfologi konvensional terbukti tidak memadai karena hanya mengandalkan bagian tertentu dari tanaman. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lokus ITS2 dapat digunakan secara efektif untuk membedakan spesies dalam genus *Uncaria*, yang sangat bermanfaat dalam proses otentikasi spesies, menjamin keamanan penggunaan obat, serta mendukung konservasi sumber daya genetik (Zhong dkk., 2015).

Referensi

1. Mojtaba kordostami and Mehdi Rahimi. 2015. Molecular Markers in Plants: Concepts and Applications. Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Nicolas Hubert and Robert Hanner. 2015. DNA Barcoding, species delineation and taxonomy: a historical perspective. DNA Barcodes. Volume 3: 44–58
3. Zhong-Lian Zhang, Mei-Fang Song, Yan-Hong Guan, Hai-Tao Li, Ying-Feng Niu, Li-Xia Zhang and Xiao-Jun Ma. 2015. DNA barcoding in medicinal plants: Testing the potential of a proposed barcoding marker for identification of *Uncaria* species from China. Biochemical Systematics and Ecology. 60: 8-14