

STUDI IN SILICO POTENSI DNA BARCODE BERBASIS DNA KLOROPLAS (cpDNA) UNTUK IDENTIFIKASI VARIASI GENETIK *Opuntis* sp.

Annisa Aulia

Universitas Negeri Padang, Indonesia

Email: annisaaulia2310@gmail.com

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Diterima	<i>Opuntis</i> merupakan tumbuhan yang habitat aslinya di gurun.
04 Agustus 2022	<i>Opuntis</i> memiliki banyak species. Untuk mengidentifikasi jenis dari
Direvisi	<i>Opuntis</i> , maka dibutuhkan metode yang tepat untuk menganalisis
19 November 2022	<i>Opuntis</i> , salah satunya melalui DNA barcode yang gennya terdapat
Disetujui	pada kloroplas. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh DNA
21 November 2022	Barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk Identifikasi
Kata kunci:	Variasi Genetik <i>Opuntis</i> sp. Metode yang dipakai yaitu dengan
<i>Opuntis</i> ; matK; rbcL; ndhF.	analisis in silico, sekuens dari species <i>Opuntis</i> diperoleh dari NCBI
	dengan lokus yang dipakai yaitu rbcL, ndhF, dan matK. Setelah
	dilakukan pengumpulan data dari NCBI, dilakukan alignment
	menggunakan aplikasi MEGA 11 dengan memilih clustalW, setelah
	disejejerkan dibuat rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan
	metode neighbor-joining (NJ). Dari penelitian ini didapatkan bahwa
	gen ndhF mampu membedakan species <i>Opuntis</i> sampai tingkat
	species, sedangkan gen rbcL dan gen matK memperlihatkan
	homologi yang tinggi pada hasil penjajaran. Berdasarkan hasil
	penelitian adalah Gen ndhF bisa digunakan dalam
	mengidentifikasi variasi genetic tingkat keragamannya yang
	tinggi.
Keywords:	ABSTRACT
<i>Opuntis</i> ; matK; rbcL; ndhF.	<i>Opuntis</i> is a plant whose natural habitat is in the desert. <i>Opuntis</i> has many species. To identify the type of <i>Opuntis</i> , we need the right method to analyze <i>Opuntis</i> , one of which is through DNA barcodes whose genes are found in chloroplasts. This study aims to obtain a DNA barcode based on chloroplast DNA (cpDNA) for Identification of Genetic Variations of <i>Opuntis</i> sp. The method used is in silico analysis, sequences of <i>Opuntis</i> species were obtained from NCBI with the loci used were rbcL, ndhF, and matK. After collecting data from NCBI, alignment was carried out using the MEGA 11 application by selecting clustalW, after aligning the phylogenetic tree reconstruction using the neighbor-joining (NJ) method. From this study it was found that the ndhF gene was able to distinguish <i>Opuntis</i> species to the species level, while the rbcL gene and matK gene showed high homology in the alignment result. Based on the results of the study, the ndhF gene can be used to identify genetic variations with a high level of diversity .

Pendahuluan

Opuntis merupakan tumbuhan yang umumnya berduri dan habitatnya di gurun. Menurut (Witt et al., 2020) anggota evolusi dari subgenus *Opuntis* pada lingkungan kering dan semi-kering menyebabkan perkembangan anatomi adaptif, morfologi, dan ancaman

fisiologi. Species *Opuntis* mempunyai perkembangan fenologi, fisiologi, dan adaptasi struktural yang menguntungkan untuk hidup di lingkungan gurun yang kering dimana memiliki keterbatasan air. Beberapa jenis *Opuntis* yaitu *Nopalea cochenillifera*, *Opuntis ficus-indica*, *Opuntis miller*, *Opuntis amyclaea*, *Opuntis imbricata*, *Opuntis megacantha*, dan *Opuntis streptacantha*.

Penelitian ([Mondragón-Jacobo & Pérez-González, 2001](#)) menjelaskan distribusi utama dari species *Opuntis* yaitu: a) *Opuntis leucotricha* ditemukan pada ketinggian 1500 dan 2500 m dengan curah hujan tahunan 220-450 mm; b) *Opuntis streptacantha* ditemukan di Zacatecas dan San Luis Potosi, dan sedikit pada Aguascalientes, Durango, Jalisco dan Guanajuato; c) *Opuntis robusta* berasosiasi dengan *Opuntis leucotricha* dan *Opuntis streptacantha*, banyak terdapat di Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Aguascalientes dan Jalisco; d) *Opuntis cantabrigiensis* tersebar pada ketinggian 1500-2200 m dengan tanah berkapur yang sedikit, banyak terdapat di Nuevo León, Coahuila, Zacatecas, San Luis Potosí, Hidalgo, Aguascalientes, Durango, Jalisco, Querétaro dan Guanajuato; e) *Opuntis rastrera* banyak terdapat di Coahuila, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí, Durango and Aguascalientes; f) *Opuntis lindheimeri* banyak terdapat pada ketinggi 1000 m dengan curah hujan 400 mm, terdapat di Coahuila, Nuevo León and Tamaulipas; g) *Opuntis phaeacantha* ditemukan di Coahuila dan bagian selatan Chihuahua dan Durango dengan ketinggian 1500-1700 m dan curah hujan 200 mm; h) *Opuntis engelmannii* NE Zacatecas and SW Coahuila dengan ketinggian 1700-2200 m; i) *Opuntis imbricata* ditemukan pada Coahuila, Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua, Aguascalientes, Durango, Jalisco dan Guanajuato; j) *Opuntis microdasys*, memiliki morfologi tanpa duri sejati dan bulu pendek serta mudah ditiup angin, ditemukan di Coahuila, bagian utara San Luis Potosí dan Zacatecas; k) *Opuntis violacea* yakni rumput pendek yang tumbuh di tanah liat yang dalam di Chihuahua, NW Coahuila dan Timur Durango dengan curah hujan tahunan 200 mm, musim panas (suhu mencapai 45oC) dan musim dingin (-8oC); l) *Opuntis rufida* adalah rumput yang tingginya mencapai 2 m tumbuh di tanah liat berkapur, di lereng, atau di lembah dalam.

Salah satu cara untuk menentukan keragaman genetik menurut ([Su'udi, 2018](#)) yaitu dengan menggunakan DNA barcode. Menurut ([Rahayu & Jannah, 2019](#)) DNA barcode merupakan teknik dengan memanfaatkan sekvens DNA pendek untuk mempermudah proses identifikasi suatu species. Pada penelitian terdahulu, taksonomi hanya didasarkan pada morfologi, yang menyebabkan hal tersebut kurang efektif. Pendapat ini juga didukung oleh ([Ghorbani et al., 2017](#)); ([Raclarie et al., 2018](#)) yang menjelaskan pengelompokan yang hanya didasarkan persamaan morfologi bisa menyebabkan salah dalam memilih species yang diinginkan, karena kebanyakan species memiliki morfologi yang hampir sama. Maka dibutuhkan DNA barcode untuk mengelompokkan species berdasarkan kesamaan gen.

Menurut ([Rahayu & Jannah, 2019](#)) DNA barcode memiliki karakteristik yaitu sekvens DNA bersifat ortolog, mempunyai variabilitas yang bisa membedakan antar species. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis DNA barcode yaitu harus ada semua taxa yang dibandingkan, memiliki pengetahuan tentang gen, tingkat evolusi gen sesuai dengan taxon yang akan diteliti, mudah dalam melakukan alignment, serta harus bersifat homolog. Menurut literatur yang dijabarkan ([Rahayu & Jannah, 2019](#)) DNA barcode ini merupakan suatu untai DNA pendek yang unik yang mampu menunjukkan variasi genetik

Studi In Silico Potensi DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas (cpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp.

pada tiap species, DNA barcode ini mampu mengidentifikasi kehidupan mulai dari telur, larva, pupa, hingga dewasa. DNA barcode menurut ([Rahayu & Jannah, 2019](#)) bisa diperoleh dari kloroplas (cpDNA), inti (nDNA), dan mitokondria (mtDNA). Beberapa contoh nDNA yaitu 18S, 26S, ITS, dan adh. Sedangkan cpDNA contohnya adalah rbcL, rp116, ndhF, atpB, dan matK.

Gen yang banyak dipilih pada pembuatan DNA barcode yaitu gen yang berasal dari kloroplas (cpDNA) hal ini karena cpDNA memiliki karakteristik genom ukuran yang kecil, genom diturunkan secara unparental dan tidak mengalami rekombinasi, serta lebih konservatif. DNA kloroplas memiliki bentuk sirkular dengan ukuran 85-2000 kb. DNA kloroplas memiliki fungsi dalam mengontrol produksi RNA transfer (tRNA), RNA ribosom (rRNA), serta sebagian besar protein yang terdapat dalam kloroplas. Hal ini juga didukung oleh penelitian ([Dong et al., 2014](#)) yang menyatakan DNA kloroplas (cpDNA) digunakan secara universal karena karakteristiknya yang efektif untuk menganalisis keragaman dan evolusi dan mampu mengidentifikasi species yang masih diragukan jenisnya. Penelitian lain juga dikemukakan oleh ([Kumar et al., 2022](#)) bahwa DNA barcode dari DNA kloroplas mampu mengidentifikasi species dengan cepat dan mampu menjelaskan hubungan filogenetik antar species, contoh DNA kloroplas yaitu trnH-psbA, trnCD, dll.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh DNA Barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai Studi Insilico Potensi DNA Barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp. Dengan tujuan memperoleh DNA Barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode in silico. Secara umum, penelitian ini terdiri atas 3 tahapan yaitu : 1) pengumpulan sekuen nukleotida dan mencari homologi, 2) penajaran sekuen nukleotida, analisis keragaman serta kekerabatan genetik *Opuntis* ([Anzani et al., 2021](#)). Analisis bioinformatika dari gen ndhF, rbcL, dan matK diperoleh dari sekuen nukleotida di bank gen NCBI. Data yang didapat dari NCBI disimpan dalam format FASTA. Sampel yang digunakan pada penelitian ini ada 19 species *Opuntis* yang diperoleh dari NCBI dengan gen yang dianalisis yaitu ndhF, rbcL, dan matK. Uraian species yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuens Gen ndhF, rbcL, dan matK dari species *Opuntis* sp. yang Diperoleh dari NCBI

Species	Nomor Akses		
	ndhF	rbcL	matK
<i>Opuntis humifusa</i>	JF787463.1	MH549931.1	KJ772965.1
<i>Opuntis vaseyi</i>	JF787458.1	-	JF786868.1
<i>Opuntis strigil</i>	JF787447.1	-	JF786858.1
<i>Opuntis abjecta</i>	JF787455.1	-	JF786865.1
<i>Opuntis dillenii</i>	JF787444.1	KF724213.1	HM851010.1
<i>Opuntis tortispina</i>	JF787454.1	-	JF786864.1

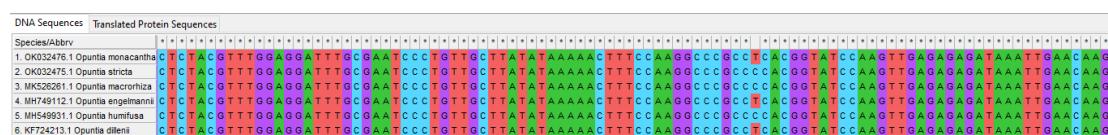
<i>Opuntis pusilla</i>	JF787418.1	-	KJ772966.1
<i>Opuntis camanchica</i>	JF787409.1	-	JF786816.1
<i>Opuntis stricta</i>	JF787443.1	OK032475.1	KJ772967.1
<i>Opuntis monacantha</i>	JF787403.1	OK032476.1	OK032474.1
<i>Opuntis pottsii</i>	JF787414.1	-	JF786824.1
<i>Opuntis engelmannii</i>	JF787375.1	MH749112.1	MH748957.1
<i>Opuntis cymochila</i>	JF787362.1	-	JF786767.1
<i>Opuntis drummondii</i>	JF787365.1	-	JF786770.1
<i>Opuntis aurea</i>	JF787341.1	-	JF786745.1
<i>Opuntis cubensis</i>	JF787361.1	-	KC591775.1
<i>Opuntis cespitosa</i>	JF787354.1	-	JF786760.1
<i>Opuntis macrorhiza</i>	JF787396.1	MK526261.1	JF786803.1
<i>Opuntis keyensis</i>	JF787387.1	-	JF786794.1
Total Sampel		19	

Berdasarkan tabel 1. setelah dilakukan pengumpulan data dari NCBI, dilakukan alignment menggunakan aplikasi MEGA 11 dengan memilih clustalW, setelah disejejerkan dibuat rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode neighbor-joining (NJ) ([Perwitasari et al., 2020](#)) dengan bootstrap 1000 dengan tujuan untuk rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan data jarak evolusi minimum ([Raudhah, 2021](#)).

Hasil dan Pembahasan

Sequence DNA yang digunakan dalam penelitian ini adalah sekuen DNA kloroplas (cpDNA), karena memiliki jumlah serta variasi sekuen yang besar pada suatu organisme tumbuhan, dengan yang dianalisis yaitu dehydrogenase subunit F (ndhF), ribulosa-1,5-bifosfat carboxilase (rbcL), dan maturaseK (matK).

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan melalui penjajaran sekuen gen rbcL, ndhF, dan matK dari species *Opuntis* sp. Tujuan dari penjajaran yaitu untuk mencari homologi dan perbedaan dari sekuen, pada penelitian ini terdapat perbedaan nukleotida yang dikarenakan terjadinya mutasi. Menurut ([Warmadewi, 2017](#)) mutasi merupakan perubahan pada materi genetik (DNA maupun RNA), baik pada tingkat gen (mutasi titik) ataupun kromosom (aberasi). Mutasi pada tingkat gen bisa menyebabkan munculnya alel baru dan menjadi dasar munculnya variasi species baru. Mutasi ini bertujuan untuk menghadapi perubahan kondisi alam. Saat mutasi muncul terdapat 2 kemungkinan yaitu 1) saat mutasi muncul, species tersebut lebih mudah beradaptasi dibanding sifat asli yang dimilikinya, 2) saat mutasi muncul, species tersebut tidak mampu beradaptasi di lingkungan baru dan berakibat punahnya spesies tersebut.



a)

Studi In Silico Potensi DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas (CpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp.

b)

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	[A-G, C-T]
1. JFT7463.1 <i>Opuntia humifusa</i> var. <i>americana</i>	[A-G, C-T]
2. JFT7458.1 <i>Opuntia vaseyi</i>	[A-G, C-T]
3. JFT7455.1 <i>Opuntia abjecta</i>	[A-G, C-T]
4. JFT7454.1 <i>Opuntia torispina</i>	[A-G, C-T]
5. JFT7447.1 <i>Opuntia stricta</i>	[A-G, C-T]
6. JFT7444.1 <i>Opuntia dilleni</i>	[A-G, C-T]
7. JFT7443.1 <i>Opuntia stricta</i>	[A-G, C-T]
8. JFT7418.1 <i>Opuntia pusilla</i>	[A-G, C-T]
9. JFT7414.1 <i>Opuntia potosii</i>	[A-G, C-T]
10. JFT7409.1 <i>Opuntia camanchica</i>	[A-G, C-T]
11. JFT7403.1 <i>Opuntia monacantha</i>	[A-G, C-T]
12. JFT7375.1 <i>Opuntia engelmannii</i>	[A-G, C-T]
13. JFT7365.1 <i>Opuntia drummondii</i>	[A-G, C-T]
14. JFT7362.1 <i>Opuntia cymochila</i>	[A-G, C-T]
15. JFT7361.1 <i>Opuntia cubensis</i>	[A-G, C-T]
16. JFT7354.1 <i>Opuntia cespitosa</i>	[A-G, C-T]
17. JFT7341.1 <i>Opuntia aurea</i>	[A-G, C-T]
18. JFT7339.1 <i>Opuntia macrorhiza</i>	[A-G, C-T]
19. JFT7337.1 <i>Opuntia keeveriana</i>	[A-G, C-T]

Species/abbrv	DNA Sequences										Translated Protein Sequences										
1. JF73463.1 Opuntia humifusa var. amm	A	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	T	T	A	A	T	G
2. JF73458.1 Opuntia vaseyi	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	T	T	A	A	A	T
3. JF73455.1 Opuntia ajoecta	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	T	T	A	A	A	T
4. JF73454.1 Opuntia tortispina	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	T	T	A	A	A	T
5. JF73447.1 Opuntia strigil	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
6. JF73444.1 Opuntia dilleni	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
7. JF73443.1 Opuntia stricta	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
8. JF73418.1 Opuntia pusilla	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
9. JF73414.1 Opuntia pottsii	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
10. JF73409.1 Opuntia canamchica	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
11. JF73403.1 Opuntia monacantha	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
12. JF73375.1 Opuntia engelmannii	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
13. JF73365.1 Opuntia drummondi	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
14. JF73362.1 Opuntia cymochila	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
15. JF73361.1 Opuntia cubensis	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
16. JF73354.1 Opuntia cespitosa	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
17. JF73341.1 Opuntia aurea	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
18. JF73396.1 Opuntia macrocariza	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
19. JF73387.1 Opuntia keyensis	G	A	G	T	G	A	A	T	C	T	A	T	T	C	A	G	T	A	A	A	T
Species/abbrv	DNA Sequences										Translated Protein Sequences										
1. JF73463.1 Opuntia humifusa var. amm	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	T	C	
2. JF73458.1 Opuntia vaseyi	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	T	C	
3. JF73455.1 Opuntia ajoecta	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
4. JF73454.1 Opuntia tortispina	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
5. JF73447.1 Opuntia strigil	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
6. JF73444.1 Opuntia dilleni	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
7. JF73443.1 Opuntia stricta	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
8. JF73418.1 Opuntia pusilla	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
9. JF73414.1 Opuntia pottsii	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
10. JF73409.1 Opuntia canamchica	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
11. JF73403.1 Opuntia monacantha	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
12. JF73375.1 Opuntia engelmannii	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
13. JF73365.1 Opuntia drummondi	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
14. JF73362.1 Opuntia cymochila	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
15. JF73361.1 Opuntia cubensis	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
16. JF73354.1 Opuntia cespitosa	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
17. JF73341.1 Opuntia aurea	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
18. JF73396.1 Opuntia macrocariza	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
19. JF73387.1 Opuntia keyensis	C	G	T	C	A	C	G	A	A	C	A	A	A	A	C	T	A	A	A	C	
Species/abbrv	DNA Sequences										Translated Protein Sequences										
1. JF73463.1 Opuntia humifusa var. amm	A	A	A	T	T	C	G	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
2. JF73458.1 Opuntia vaseyi	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
3. JF73455.1 Opuntia ajoecta	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
4. JF73454.1 Opuntia tortispina	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
5. JF73447.1 Opuntia strigil	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
6. JF73444.1 Opuntia dilleni	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
7. JF73443.1 Opuntia stricta	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
8. JF73418.1 Opuntia pusilla	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
9. JF73414.1 Opuntia pottsii	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
10. JF73409.1 Opuntia canamchica	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
11. JF73403.1 Opuntia monacantha	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
12. JF73375.1 Opuntia engelmannii	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
13. JF73365.1 Opuntia drummondi	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
14. JF73362.1 Opuntia cymochila	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
15. JF73361.1 Opuntia cubensis	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
16. JF73354.1 Opuntia cespitosa	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
17. JF73341.1 Opuntia aurea	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
18. JF73396.1 Opuntia macrocariza	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
19. JF73387.1 Opuntia keyensis	G	A	T	T	C	A	T	T	A	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
Species/abbrv	DNA Sequences										Translated Protein Sequences										
1. JF73463.1 Opuntia humifusa var. amm	A	A	A	T	T	C	G	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
2. JF73458.1 Opuntia vaseyi	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
3. JF73455.1 Opuntia ajoecta	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
4. JF73454.1 Opuntia tortispina	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
5. JF73447.1 Opuntia strigil	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
6. JF73444.1 Opuntia dilleni	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
7. JF73443.1 Opuntia stricta	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
8. JF73418.1 Opuntia pusilla	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
9. JF73414.1 Opuntia pottsii	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
10. JF73409.1 Opuntia canamchica	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
11. JF73403.1 Opuntia monacantha	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
12. JF73375.1 Opuntia engelmannii	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
13. JF73365.1 Opuntia drummondi	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
14. JF73362.1 Opuntia cymochila	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
15. JF73361.1 Opuntia cubensis	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
16. JF73354.1 Opuntia cespitosa	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
17. JF73341.1 Opuntia aurea	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
18. JF73396.1 Opuntia macrocariza	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	
19. JF73387.1 Opuntia keyensis	C	T	T	A	T	C	A	T	T	T	A	G	T	T	T	G	A	T	G	C	

c)

Gambar 1. Hasil penjejeran sekuen dari species *Opuntis* pada a) gen *rbcL*, b) gen *matK*, c) gen *ndhF*. Tanda (*) menyimbolkan homologi, tanda gap (-) menyimbolkan insersi dan delesi

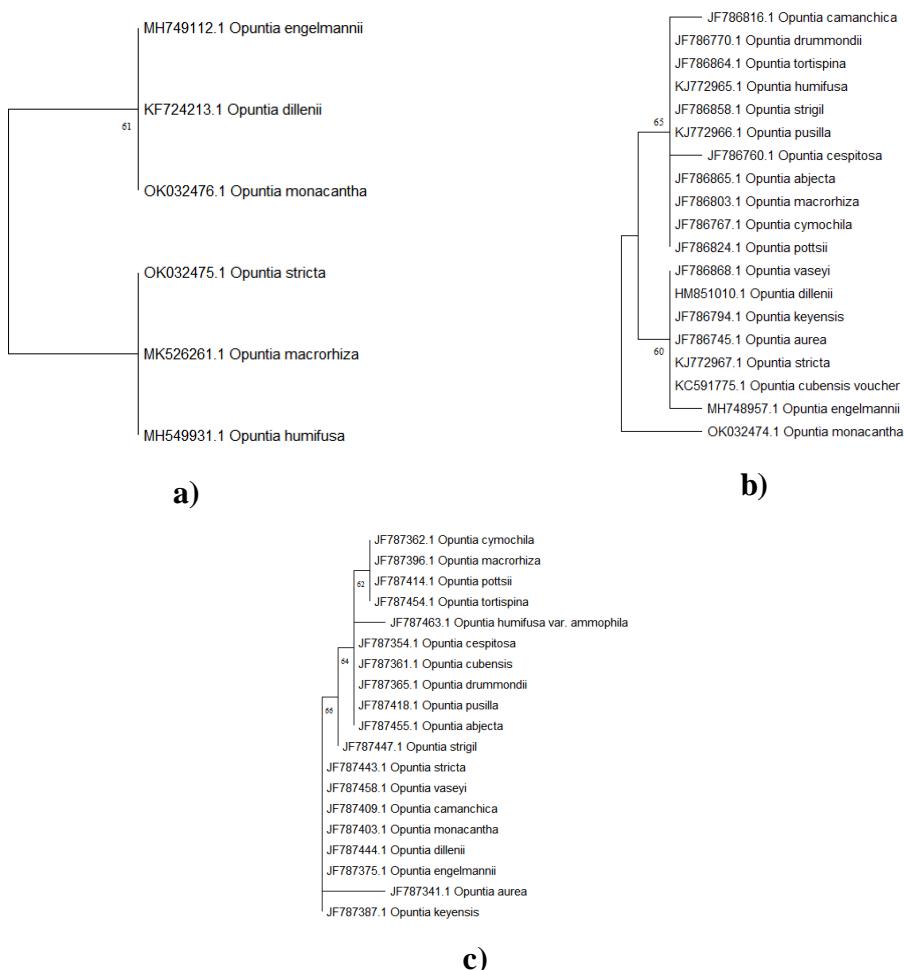
Studi In Silico Potensi DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas (CpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntis* sp.

Pada Gambar 1. terlihat bahwa variasi genetik yang dihasilkan gen rbcL memiliki homologi yang tinggi, hal yang sama juga didukung oleh penelitian ([Ingkiriwang et al., 2018](#)); ([Alshehri et al., 2019](#)) dimana kemampuan gen rbcL dalam membedakan tingkat species lemah, gen rbcL hanya bisa membedakan sampai tingkat genus.

Pada Gambar 1. terlihat bahwa variasi genetik yang dihasilkan gen matK memiliki homologi yang juga tinggi, penelitian ([Rohimah et al., 2018](#)) menyatakan gen gen matK dan rbcL tidak bisa digunakan sebagai DNA barcode, karena memiliki tingkat homologi yang tinggi. Menurut ([Abbas et al., 2020](#)) gen matK memiliki variasi yang tinggi pada tingkat genus tetapi tidak pada tingkat species. Menurut ([Perwitasari et al., 2020](#)) homologi yang tinggi mengindikasikan variasi genetik antar species rendah. Pada penelitian ini, gen matK barcode species *Opuntis monacantha* diperoleh dari lokus matK karena memiliki perbedaan urutan basa nukleotida dibandingkan species lain.

Dari hasil alignment Gambar 1. terlihat bahwa gen ndhF lebih spesifik dan menunjukkan keragaman genetik dari setiap species dibandingkan dengan gen rbcL dan gen matK. Penjajaran pada sekuen gen ndhF terlihat adanya gap (-), menurut ([Tnah et al., 2019](#)) menyatakan variasi panjang yang berbeda pada tiap sekuen dikarenakan insersi, delesi, dan pengulangan mononukleotida. Insersi dan delesi disimbolkan dengan kesenjangan (gap “-”), hal ini disebut juga dengan mismatch (ketidakcocokan). Penelitian ([Roslim & Fitriani, 2021](#)); ([Li et al., 2021](#)); ([Amar, 2020](#)) yang menyatakan bahwa gen ndhF mampu menentukan keragaman genetik *Opuntis* sp. karena divergensi urutan asam aminonya 4x lebih besar dibandingkan dengan gen rbcL. Penelitian ([Pang et al., 2019](#)) membuktikan bahwa gen ndhF memiliki tingkat variabilitas yang tinggi yaitu 4,82%, kemudian diikuti oleh gen trnR-atpA (4,35%) dan matK-trnK-rps16 (4,02%). Ketepatan identifikasi gen ndhF juga tinggi yaitu 83,33%, lalu diikuti oleh matK-trnK-rps16 (79.17%) dan ycf1b (70.83%). Barcode *Opuntis aurea* diperoleh dari lokus ndhF karena memiliki banyak perbedaan dari species lain, salah satunya pada lokus ndhF terjadi insersi (penambahan) sekuen GTATTA pada species *Opuntis aurea* yang merupakan duplikasi sekuen sebelumnya.

Saat rekonstruksi pohon filogenetik, digunakan bootstrap dengan ulangan 1000 kali, hal ini menurut ([Raudhah, 2021](#)); ([Priyadi et al., 2022](#)) bertujuan untuk mendapatkan pohon filogenetik dengan hasil yang lebih akurat. Pohon filogenetik dibuat untuk melihat hubungan kekerabatan antar species, hal ini dinyatakan oleh ([Raudhah, 2021](#)) hubungan kekerabatan adalah status intraspecies maupun interspecies dengan persentase kemiripan yang cukup tinggi, sehingga suatu species bisa dibilang berkerabat. Total species yang dianalisis yaitu 19 species masing-masing untuk gen dehydrogenase subunit F (ndhF), ribulosa-1,5-bifosfat carboxilase (rbcL), dan maturaseK (matK).



Gambar 2. Pohon filogenetik a) gen *rbcL*, b) gen *matK*, c) gen *ndhF*

Berdasarkan gambar 2. hasil analisis pohon filogenetik *Opuntis* berdasarkan gen *rbcL*, terlihat bahwa *Opuntis engelmannii* berkerabat dekat dengan *Opuntis dillenii* dan *Opuntis monacantha* dengan nilai bootstrap 61. Kekerabatan *Opuntis stricta* dekat dengan *Opuntis macrorhiza* dan *Opuntis humifusa*. Pada gen *matK*, terlihat bahwa *Opuntis humifusa* berkerabat dekat dengan *Opuntis drummondii*, *Opuntis tortispina*, *Opuntis strigil*, *Opuntis pusilla*, dan *Opuntis camanchica* dengan nilai bootstrap yaitu 65. Pada gen *ndhF*, terlihat bahwa *Opuntis drummondii* berkerabat dekat dengan *Opuntis cespitosa*, *Opuntis cubensis*, *Opuntis pusilla*, dan *Opuntis abjecta* dengan nilai bootstrap 64.

Dari pohon filogenetik bisa dilihat bahwa nilai bootstrap paling tinggi yaitu 66 yang terdapat pada pohon filogenetik gen *ndhF*. Nilai bootstrap yang tinggi dikarenakan species tersebut memiliki kekerabatan yang dekat dengan susunan sekuens yang mirip. Menurut (Anzani et al., 2021) tiap species yang memiliki hubungan kekerabatan yang dekat akan dikelompokkan dalam satu percabangan yang sama. Berbeda dengan penelitian (Yang et al., 2017) yang menyatakan bahwa DNA barcode yang cocok untuk analisis species tumbuhan khususnya oaks yaitu gen psbA-trnA+matK-trnK+matK-yfc1+ITS+SAP. Perbedaan juga terdapat pada penelitian (Tran et al., 2021) gen yang cocok untuk dijadikan barcode pada tumbuhan khususnya anggrek yaitu gen *matK* dan *rbcL*.

Kesimpulan

Dari penelitian ini didapatkan bahwa gen *ndhF* mampu membedakan species *Opuntia* sampai tingkat species, sedangkan gen *rbcL* dan gen *matK* memperlihatkan homologi yang tinggi pada hasil penjajaran. Berdasarkan hasil penelitian adalah Gen *ndhF* bisa digunakan dalam mengidentifikasi variasi genetic tingkat keragamannya yang tinggi.

BIBLIOGRAPHY

- Abbas, B., Kabes, R. J., Mawikere, N. L., Ruimassa, R. M. R., & Maturbong, R. A. (2020). DNA barcode of *Metroxylon sagu* and others palm species using matK gene. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9), 4047–4057. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210916>. [Google Scholar](#)
- Alshehri, M. A., Aziz, A. T., Alzahrani, O., Alasmari, A., Ibrahim, S., Osman, G., & Bahattab, O. (2019). DNA-barcoding and species identification for some Saudi Arabia Seaweeds using rbcl gene. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 13(4), 2035–2044. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.15>. [Google Scholar](#)
- Amar, M. H. (2020). *ycf1-ndhF* genes, the most promising plastid genomic barcode, sheds light on phylogeny at low taxonomic levels in *Prunus persica*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00057-3>. [Google Scholar](#)
- Anzani, A. N., Martiansyah, I., & Yuliani, N. (2021). Studi in silico DNA barcoding pada bunga soka (*Ixora*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 7(1), 168–177. <https://doi.org/10.24252/psb.v7i1.23693>. [Google Scholar](#)
- Dong, W., Cheng, T., Li, C., Xu, C., Long, P., Chen, C., & Zhou, S. (2014). Discriminating plants using the DNA barcode rbc L b: an appraisal based on a large data set. *Molecular Ecology Resources*, 14(2), 336–343. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12185>. [Google Scholar](#)
- Ghorbani, A., Saeedi, Y., & De Boer, H. J. (2017). Unidentifiable by morphology: DNA barcoding of plant material in local markets in Iran. *PloS One*, 12(4), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175722>. [Google Scholar](#)
- Ingkiriwang, M., Repi, R. A., & Nanlohy, F. N. (2018). Analisis filogeni molekuler tanaman pala (*Myristica* sp) dari tahuna menggunakan gen rbcl DNA kloroplas. *JSME (Jurnal Sains, Matematika & Edukasi)*, 5(2), 137–144. [Google Scholar](#)
- Kumar, S., Kaushik, R. A., Jain, D., Saini, V. P., Babu, S. R., Choudhary, R., & Ercisli, S. (2022). Genetic diversity among local mango (*Mangifera indica L.*) germplasm using morphological, biochemical and chloroplast DNA barcodes analyses. *Molecular Biology Reports*, 49, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07186-7>. [Google Scholar](#)
- Li, H., Xiao, W., Tong, T., Li, Y., Zhang, M., Lin, X., Zou, X., Wu, Q., & Guo, X. (2021). The specific DNA barcodes based on chloroplast genes for species identification of Orchidaceae plants. *Scientific Reports*, 11(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81087-w>. [Google Scholar](#)
- Mondragón-Jacobo, C., & Pérez-González, S. (2001). Germplasm resources and breeding *Opuntia* for fodder production. In *FAO Plant Production and Protection Paper (FAO)*. FAO. [Google Scholar](#)
- Pang, X., Liu, H., Wu, S., Yuan, Y., Li, H., Dong, J., Liu, Z., An, C., Su, Z., & Li, B. (2019). Species identification of oaks (*Quercus* L., Fagaceae) from gene to genome.

Studi In Silico Potensi DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas
(CpDNA) untuk Identifikasi Variasi Genetik *Opuntia* sp.

International Journal of Molecular Sciences, 20(23), 1–14.
<https://doi.org/10.3390/ijms20235940>. [Google Scholar](#)

Perwitasari, D. A. G., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., & Su'udi, M. (2020). DNA barcoding anggrek obat *Dendrobium disolor* Lindl. Tanimbar menggunakan gen *rbcL* dan ITS. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 31(1), 8–20. <https://doi.org/10.21082/bullitro.v31n1.2020.8-20>. [Google Scholar](#)

Priyadi, A., Asih, N. P. S., & Erlinawati, I. (2022). Reconstructing Phylogenies of *Alocasia* spp.(Araceae) Distributed in Indonesia for Conservation Prioritization: Reconstructing phylogenies of *Alocasia* spp.(Araceae). *Journal of Tropical Life Science*, 12(3), 317–323. <https://doi.org/10.11594/jtls.12.03.04>. [Google Scholar](#)

Raclariu, A. C., Heinrich, M., Ichim, M. C., & de Boer, H. (2018). Benefits and limitations of DNA barcoding and metabarcoding in herbal product authentication. *Phytochemical Analysis*, 29(2), 123–128. <https://doi.org/10.1002/pca.2732>. [Google Scholar](#)

Rahayu, D. A., & Jannah, M. (2019). *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia*. Jakarta: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya. [Google Scholar](#)

Raudhah, F. C. (2021). *Variasi genetik dan kekerabatan Kosambi (*Schleichera oleosa* Merr.) di Malang Raya berdasarkan sekuen marka molekuler gen rbcL (Large subunit ribulose 1, 5 biphosphat carboxylase/oxygenase)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. [Google Scholar](#)

Rohimah, S., Mukarramah, L., Sindiya, V., Veren Yuliana, S., Gita Ayu, K., & Su'udi, M. (2018). Eksplorasi Jenis dan Potensi DNA Barcode Anggrek *Thrixspermum* Secara In Silico. *Jurnal Biodjati*, 3(2), 148–156. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i2.3409>. [Google Scholar](#)

Roslim, D. I., & Fitriani, A. (2021). Barkoding DNA pada Tumbuhan Durik-Durik (*Syzygium* sp.) Asal Riau Menggunakan Daerah Gen *ndhF*. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 41–46. <https://doi.org/10.35799/jbl.11.1.2021.31191>. [Google Scholar](#)

Su'udi, M. (2018). Studi in silico potensi DNA barcode pada anggrek langka *Paphiopedilum*. *Biosfer: Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 3(1), 20–26. <https://doi.org/10.23969/biosfer.v3i1.1250>. [Google Scholar](#)

Tnah, L. H., Lee, S. L., Tan, A. L., Lee, C. T., Ng, K. K. S., Ng, C. H., & Farhanah, Z. N. (2019). DNA barcode database of common herbal plants in the tropics: a resource for herbal product authentication. *Food Control*, 95, 318–326. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.022>. [Google Scholar](#)

Tran, T. K. P., Vu, T. T. T., & Widiarsih, S. (2021). Comparison of matK and rbcL DNA barcodes for genetic classification of jewel orchid accessions in Vietnam. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00188-1>. [Google Scholar](#)

Warmadewi, D. A. (2017). Buku Ajar Mutasi Genetik. In *Mutasi Genetik* (Vol. 15, p. 16). Denpasar: Universitas Udayana. [Google Scholar](#)

Witt, A. B. R., Nunda, W., Makale, F., & Reynolds, K. (2020). A preliminary analysis of the costs and benefits of the biological control agent Dactylopius Opuntise on *Opuntis* stricta in Laikipia County, Kenya. *BioControl*, 65(4), 515–523. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10018-x>. [Google Scholar](#)

Yang, J., Vázquez, L., Chen, X., Li, H., Zhang, H., Liu, Z., & Zhao, G. (2017). Development of chloroplast and nuclear DNA markers for Chinese oaks (Quercus subgenus Quercus) and assessment of their utility as DNA barcodes. *Frontiers in Plant Science*, 8, 816. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00816>. [Google Scholar](#)

Copyright holder :
Annisa Aulia (2022)

First publication right :
Jurnal Syntax Admiration

This article is licensed under:

