

DNA Barcode Analysis of *Dendrobium* sp. Based On *rbcl* Sequence

Edia Fitri Dwinianti¹, Durotun Ainiyah¹, Yusfi Afidah¹, & Mukhamad Su'udi^{1*}

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember, Jember, Indonesia;

Article History

Received : August 16th, 2025

Revised : September 17th, 2025

Accepted : October 05th, 2025

*Corresponding Author:

Mukhamad Su'udi,

Jurusan Biologi, Fakultas

Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas

Jember, Jember, Indonesia;

Email:

msuudi.fmipa@unej.ac.id

Abstract: Morphological characterization of *Dendrobium* orchids needs to be supported by the utilization of DNA barcoding as a faster and more accurate approach. This study aims to identify the *rbcl* marker as a potential barcode for *Dendrobium* sp. collected from Jenggawah, Jember. The isolation of *Dendrobium* sp. genomic DNA was performed using the CTAB method, and the isolated DNA was amplified using PCR. The PCR products were used for sequencing analysis, and the sequence data were analyzed using several bioinformatics programs namely BLAST, ClustalX 2.1, and MEGA11. The results showed that the *Dendrobium* sp. sequence had a high level of homology with *Calanthe alpina* (MN192480.1), with a genetic similarity of 99.82%. The sequence analysis results of *rbcl* in *Dendrobium* sp. showed low genetic variation, which made *rbcl* less effective for use as a molecular marker at the species level. The *rbcl* barcode showed universal results for *Dendrobium* sp., so it needs to be supported by molecular identification using other markers such as *matK* and ITS for a more effective identification method in distinguishing between species.

Keywords: Barcode, *Dendrobium*, Molecular marker, Orchid, Phylogenetic

Pendahuluan

Anggrek merupakan anggota famili Orchidaceae yang terdiri atas 600-800 genus dengan jumlah sekitar 25.000-35.000 spesies. Tanaman anggrek memiliki nilai ekonomi dan berpotensi sebagai tanaman obat (Chung et al., 2017). *Dendrobium* merupakan salah satu dari genus terbesar dari family Orchidaceae yang diperkirakan berjumlah sekitar 1.600 spesies. Genus ini memiliki keanekaragaman jenis yang tinggi baik berupa anggrek alam maupun anggrek hasil persilangan (De et al., 2015).

Selain sebagai tanaman ornamental, beberapa jenis *Dendrobium* dimanfaatkan sebagai obat herbal diantaranya yaitu daun *Dendrobium salaccense* berkhasiat untuk mengurangi sakit perut dan daun *Dendrobium crumenatum* digunakan untuk mengobati jerawat (Silalahi & Nisyawati, 2015; Wahyudiningsih et al., 2017). *Dendrobium nobile* Lindl. menunjukkan beberapa aktivitas farmakologis sebagai antioksidan, antitumor, antiaging, mengobati katarak dan meningkatkan sistem imun (Ramesh et al., 2019). Beberapa spesies

Dendrobium telah lama digunakan sebagai tonik dalam pengobatan China yang menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi untuk aplikasi pengobatan modern (Asahina et al., 2010). Obat herbal secara umum tergolong aman dan hanya memiliki efek samping yang rendah dibandingkan dengan obat sintetik (Ardalan & Rafieian-Kopaei, 2013; Zhang et al., 2015). Sehingga obat herbal sangat potensial untuk dieksplorasi dan dikembangkan lebih lanjut.

Karakter morfologi anggrek dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisis hubungan kekerabatan antar spesies (Kasutjaningati & Firgiyanto, 2018). Karakterisasi secara morfologi sebagai langkah penting dalam menentukan hubungan genetik antar spesies dalam satu genus (Hartati et al., 2022). Namun proses identifikasi secara morfologi perlu didukung dengan analisis molekuler. Karakter morfologi yang hampir identik, terutama saat tanaman anggrek belum berbunga, dapat menyebabkan kesulitan dalam proses identifikasi (Feng et al., 2015; Maulidya et al., 2020). Anggrek yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari kebun koleksi di

Jenggawah Jember. Anggrek tersebut merupakan jenis anggrek *Dendrobium* hybrid. Dalam mengidentifikasi jenis anggrek tersebut, dilakukan karakterisasi secara morfologi dan analisis secara molekuler menggunakan DNA barcoding.

DNA barcode telah digunakan secara intensif untuk identifikasi spesies atau klasifikasi (Ho et al., 2021). *Consortium for Barcode of Life's* (CBOL) menyarankan gen plastida yaitu ribulose-1.5-biphosphate carboxylase (*rbcL*) sebagai standar barcode untuk tumbuhan. *rbcL* adalah gen plastida yang paling sering digunakan dalam studi filogenetik tumbuhan, terutama spesies keluarga Orchidaceae (Moudi et al., 2013; Pham et al., 2021). Penelitian oleh Pham et al., (2021) menunjukkan *rbcL* memberikan resolusi yang lebih baik daripada *matK* dalam mengidentifikasi spesies *Dendrobium anosmum* Lindl. var. semialba. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi anggrek *Dendrobium* sp. menggunakan marker *rbcL*. Barcode *rbcL* dari *Dendrobium* sp. diharapkan dapat digunakan untuk mengevaluasi diversitas tropis khususnya di Indonesia.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di sub Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember pada bulan Maret sampai Juni 2024.

Kategori Penelitian

Penelitian ini merupakan studi deskriptif eksploratif berbasis molekuler menggunakan pendekatan analisis sekuen DNA. Pada penelitian ini tidak ada perlakuan pada sampel, namun menganalisis urutan sekuen *rbcL* untuk mengidentifikasi spesies *Dendrobium*.

Alat dan Bahan

Alat utama yang digunakan adalah neraca digital, mortar, alu, mikropipet, vortex, *centrifuge*, *thermoshaker*, mesin PCR, *hot plate*, set elektroforesis, lemari pendingin, *UV transilluminator*, *Personal Computer* (PC) dan *software* bioinformatika. Bahan yang digunakan yaitu satu sampel tanaman anggrek dari kebun koleksi di Jenggawah Jember, buffer ekstraksi CTAB, *chloroform*, *RNAse*, isopropanol, etanol

70%, *TE buffer*, *Green master mix*, satu set primer *rbcL*, *nuclease free water*, EtBr, agarose, TAE buffer, dan DNA ladder 1 kb.

Pengamatan Morfologi Anggrek

Karakter morfologi anggrek diidentifikasi menggunakan beberapa referensi yang berkaitan dengan karakteristik anggrek yaitu *Orchids of Papua New Guinea* (Millar, 1978) dan *Key to the genera of Orchidaceae of New Guinea* (Schuiteman, 1995). Selain itu juga digunakan referensi lain yaitu *Flora Malesiana: Orchids of New Guinea* (Schuiteman et al., 2010).

Isolasi DNA Genom

DNA genom *Dendrobium* sp. diisolasi menggunakan metode CTAB. Daun *Dendrobium* sp. sebanyak 0,5 gram, dipotong-potong hingga berukuran kecil. Mortar dan alu dibersihkan dengan alkohol untuk sterilisasi. Nitrogen cair dituangkan ke dalam mortar yang berisi sampel dan sampel digerus sampai menjadi serbuk. Serbuk daun ditambah 2 mL buffer CTAB. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam *microtube*, dihomogenisasi menggunakan vortex, kemudian homogenat diinkubasi pada *thermoshaker* suhu 65°C selama 1 jam. Selanjutnya, sampel ditambah 500 µL *chloroform* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Proses *swirling* sampel pada *microtube* dilakukan perlahan. Sampel disentrifugasi 10.000 rpm, 25°C, 15 menit. Supernatan (600 µL) dipindahkan pada *microtube* lain dan ditambah dengan 5 µL *RNAse*. Proses purifikasi dengan *RNAse* dilakukan dengan inkubasi pada *thermoshaker* suhu 37°C, 30 menit. Supernatan ditambah 600 µL (1 x volume) isopropanol dingin dan dihomogenisasi beberapa kali. Kemudian disentrifugasi 10.000 rpm, 4°C, 15 menit sebanyak 2 kali ulangan. Supernatan dibuang dan ditambahkan 700 µL etanol 70%. Sampel disentrifugasi 10.000 rpm, 4°C, 10 menit, kemudian dikeringanginkan selama semalam. Pellet ditambah 44 µL *TE buffer*, diinkubasi pada *thermoshaker* suhu 55°C, 10 menit. Sampel DNA disimpan pada suhu 4°C (Su'udi et al., 2024).

Analisis PCR

Amplifikasi DNA sampel *Dendrobium* sp. menggunakan set primer *rbcL* yaitu *rbcLa F* (5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAGC-3')

dan *rbcLa_R* (3'-GTAAAATCAAGTCCAACRCG-5'). Volume total reaksi PCR yaitu 20 μ L yang terdiri atas *Green Mix* 10 μ L, *Nuclease Free Water* 6 μ L, primer *rbcL forward* dan *reverse* masing-masing 1 μ L serta DNA genom *Dendrobium sp* 2 μ L. Hasil amplifikasi PCR dielektroforesis dengan agarose 1,25%, kemudian divisualiasi dengan *UV Transluminator* (Maulidya et al., 2020).

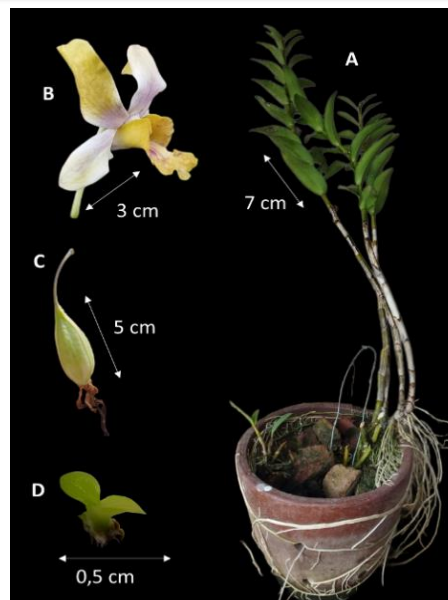
Analisis Sekuen dan Konstruksi Pohon Filogenetik

Produk PCR dikuensing menggunakan layanan 1st BASE Singapura. Produk sekuensing dianalisis dengan program BLAST (NCBI) untuk mengetahui tingkat kesamaan sekuen *rbcL* pada *Dendrobium sp.* dengan sekuen lain yang sudah dipublikasikan. Kemudian 10 sekuen *rbcL* yang memiliki tingkat kesamaan yang tinggi dan memiliki ukuran $\pm$ 600 bp digunakan untuk analisis lebih lanjut. Total sepuluh sekuen disimpan dalam format FASTA dilakukan proses *alignment* menggunakan *software* ClustalX 2.1 untuk mengidentifikasi kemiripan urutan basa nukleotida (Chenna et al., 2003). Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan *software* MEGA11 untuk mengetahui hubungan kekerabatan sampel *Dendrobium sp.* dengan sekuen database (Tamura et al., 2021). Proses konstruksi menggunakan metode *Neighbor-Joining* berdasarkan jarak evolusinya.

Hasil dan Pembahasan

Karakterisasi Morfologi

Dendrobium sp. yang digunakan sebagai objek penelitian ini memiliki habitus pertumbuhan sympodial, daun berbentuk *lanceolate*. Bunga terdiri atas petal, sepal, sepal dorsal dan labellum dengan tepi tumpul dan berlekuk. Bunga berwarna dominan kuning kecoklatan dengan kombinasi ungu muda. *Seed capsule* berwarna kehijauan (Gambar 1A-C). Kultur anggrek *Dendrobium* usia 5 bulan (gambar 1D) yang berhasil dikulturkan dari *seed capsule (pod)* (Gambar 1C) menggunakan media organik sederhana (Ziyaroh et al., 2024).

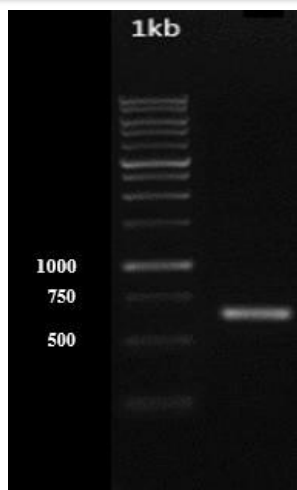


Gambar 1. Karakter morfologi *Dendrobium sp.*: A. Habitus; B. Bunga; C. *Seed Capsule (pod)*; D. Kultur Anggrek usia 5 bulan

Hasil observasi yang sudah dilakukan memiliki hasil yang identik dengan laporan sebelumnya yaitu genus *Dendrobium* secara umum memiliki pertumbuhan epifit sympodial dengan pseudobulb atau batang yang panjang dan daun yang lembut pada seluruh atau pada beberapa spesies (De et al., 2015). Anggrek *Dendrobium sp.* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bentuk bintang dengan bentuk *labellum elliptic*. *Labellum* merupakan modifikasi kelopak dan menjadi ciri khas famili *Orchidaceae* dengan berbagai bentuk dan warna. Setiap spesies anggota famili *Orchidaceae* memiliki karakteristik *labellum* yang berbeda-beda (Hartati et al., 2022; Indraloka et al., 2019).

Karakterisasi Menggunakan DNA Barcode *rbcL*

Sampel DNA genom *Dendrobium sp.* digunakan dalam analisis secara molekuler menggunakan DNA barcode *rbcL*. Visualisasi DNA sampel hasil amplifikasi dengan marker *rbcL* menunjukkan pita tunggal yang jelas. Ukuran pita DNA yang berhasil divisualisasikan pada gel agarose sesuai ukuran target primer *rbcL* yaitu sebesar $\pm$ 567 bp (Gambar 1).



Gambar 2. Visualisasi DNA *Dendrobium* sp. hasil amplifikasi menggunakan set primer *rbcL*.

Pita yang jelas menunjukkan berlangsungnya proses PCR yang optimal, sehingga dapat dilanjutkan dengan tahap purifikasi sampai sekuensing (Perwitasari et al., 2020). Ukuran pita yang dihasilkan dari amplifikasi menggunakan primer *rbcL* pada penelitian ini sebesar ± 567 bp mengindikasikan kesesuaian dengan ukuran yang disarankan yaitu ± 600 bp (Hollingsworth et al., 2009). Hal ini juga sesuai dengan penelitian analisis barcode *rbcL*

pada tanaman terestrial dan tanaman obat yang menyatakan bahwa ukuran ampikon *rbcL* yaitu 550-650 bp (Kress & Erickson, 2007; Malik et al., 2019). Visualisasi hasil PCR berupa pita tunggal yang jelas dan sesuai ukuran target menunjukkan keberhasilan proses amplifikasi. Hal tersebut didukung dengan tingkat kemurnian isolat DNA genom yang tinggi, desain primer yang tepat, penggunaan primer yang spesifik, ketepatan kondisi PCR terutama tahap *annealing* (Ekman, 1999).

a. Pensejajaran Sekuen *Dendrobium* sp.

Sekuen *rbcL* digunakan dalam analisis bioinformatika. Hasil analisis BLAST NCBI menunjukkan sekuen *rbcL* sampel *Dendrobium* sp. memiliki tingkat homologi yang lebih beragam dengan beberapa spesies yaitu *Elleanthus*, *Calanthe*, *Phaiaus*, *Dendrobium*, *Spathoglottis*, *Bulbophyllum* dan *Isocchilus*. Tingkat homologi tertinggi berdasarkan hasil analisis BLAST yaitu dengan *Calanthe alpina* (MN192480.1) dan *Elleanthus cynarocephalus* (OP711590.1) dengan persentase kemiripan (Percent identity) sebesar 99,82%. (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil BLAST sekuen *rbcL* dari *Dendrobium* sp.

Nama spesies	Nomor Akses	Per. Ident	Query cover	E-value	Asal
<i>Elleanthus cynarocephalus</i>	OP711590.1	99.82%	100%	0.0	USA
<i>Calanthe alpina</i>	MN192480.1	99.82%	100%	0.0	Cina
<i>Phaiaus wenshanensis</i>	MN561177.1	99.65%	100%	0.0	Cina
<i>Dendrobium floresianum</i>	OM311677.1	99.65%	100%	0.0	Malaysia
<i>Dendrobium aggregatum</i>	KF421862.1	99.65%	100%	0.0	Bangladesh
<i>Spathoglottis plicata</i>	KF421872.1	99.65%	100%	0.0	Bangladesh
<i>Bulbophyllum lilacinum</i>	KF421861.1	99.65%	100%	0.0	Bangladesh
<i>Calanthe davidii</i>	MN204696.1	99.65%	100%	0.0	China
<i>Calanthe tricarinata</i>	MN204697.1	99.65%	100%	0.0	China
<i>Isocchilus oaxacanus</i>	OP711547.1	99.65%	100 %	0.0	Mexico

Tingkat homologi yang lebih beragam pada penelitian ini menunjukkan bahwa sekuen *rbcL* mampu membedakan spesies terbatas sampai tingkat genus. Tingkat kemiripan yang tinggi menunjukkan tingginya tingkat homologi kedua sekuens yang menunjukkan memiliki variasi genetik antar spesies yang rendah (Perwitasari et al., 2020).

Hasil alignment sekuen *rbcL*

Dendrobium sp. dengan salah satu spesies yang memiliki tingkat homologi tinggi yaitu *C. alpina* menunjukkan hanya terdapat perbedaan satu nukleotida. Perbedaan tersebut terdeteksi pada sekuen *rbcL* basa nukleotida ke-415. Pada urutan tersebut, sampel *Dendrobium* sp. memiliki basa nukleotida timin (T), sementara *C. alpina* memiliki basa nukleotida Cytosin (C) (Gambar 3).

```

      *      20      *      40      *      60      *      80      *      100
MN192480.1 : AAACAGAGACTAAAGCAAGCGTTGGATTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAGATACTGATATCTTGGCAGC : 106
Dendrobium : ---CAGAGACTAAAGCAAGCGTTGGATTAAAGCTGGTGTAAAGATTACAAATTGACTTATTATACTCCTGACTACGAAACCAAGATACTGATATCTTGGCAGC : 103

      *      120     *      140     *      160     *      180     *      200     *
MN192480.1 : ATTCCGAGTAACCTCAACCGGAGTTCGCCTGAAGAAGCGGGGGCTGCGGTAGTCCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTT : 212
Dendrobium : ATTCCGAGTAACCTCAACCGGAGTTCGCCTGAAGAAGCGGGGGCTGCGGTAGTCCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACTGATGGACTT : 209

      220      *      240      *      260      *      280      *      300      *      3
MN192480.1 : ACCAGTCTTGATCGTTACAAGGACGATGCTACCATCGAGGTCGTTGTTGGGAGGAAAAATCAATATATGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTGAAG : 318
Dendrobium : ACCAGTCTTGATCGTTACAAGGACGATGCTACCATCGAGGTCGTTGTTGGGAGGAAAAATCAATATATGCTTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTGAAG : 315

      20      *      340      *      360      *      380      *      400      *      420
MN192480.1 : AAGGTTCTGTACTAATCATGTTTACTTCCATTGTGGTAATGATTGTTTCAAGCCCTGCGAGCTCTACGCTGGAAGATCTGCGAATCCCTCTTCTTATTC : 424
Dendrobium : AAGGTTCTGTACTAATCATGTTTACTTCCATTGTGGTAATGATTGTTTCAAGCCCTGCGAGCTCTACGCTGGAAGATCTGCGAATCCCTCTTCTTATTC : 421

      *      440      *      460      *      480      *      500      *      520      *
MN192480.1 : CAAAACCTTCCAAGTCCGCCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAGTACGGTCGTCCCTATTGGGATGACTATTAAACCAAAATTTGGGATTA : 530
Dendrobium : CAAAACCTTCCAAGTCCGCCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAGTACGGTCGTCCCTATTGGGATGACTATTAAACCAAAATTTGGGATTA : 527

      540      *      560      *      580      *      600      *      620      *
MN192480.1 : TCCGCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTATTACTAAGGATGATGAAACGTAATTCACAACTTTATCGCTGGAGAG : 636
Dendrobium : TCCGCAAAAACTACGGTAGAGCGGTTTATGAATGTCTACGGGGTGGACTTATTACTAAGGATGATGAAACGTAATTCACAACTTTATCGCTGGAGAG : 636

      640      *      660      *      680      *      700      *      720
MN192480.1 : ATCGTTTCTTATTTTGTGCCGAAGCGCTTTATAAGCGCAAGCCGAAACGGGTGAAATTAAAGGACATTACTTGAATGCTACTGCAG : 723
Dendrobium : ----- : -

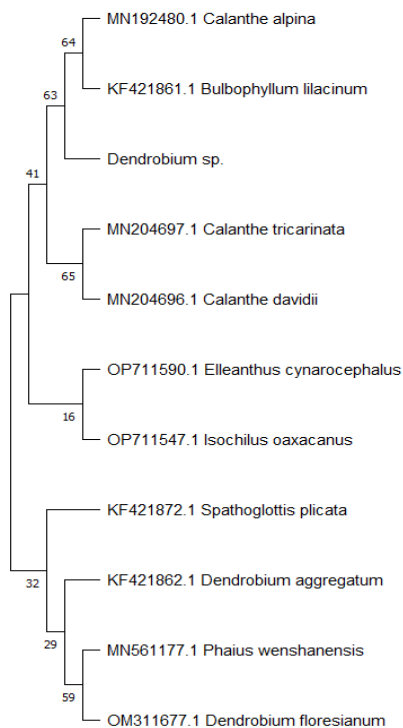
```

Gambar 3. Hasil pensejajaran sekuen *rbcL* sampel anggrek *Dendrobium* sp. dengan sekuen *Calanthe alpina*

Ukuran panjang sekuen pada sampel sebesar 567 bp, sedangkan pada *C. alpina* sebesar 723 bp dan diantara sekuen yang disejajarkan hanya terdapat satu perbedaan basa nukleotida saja. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sekuens *rbcL* memiliki variasi genetik yang rendah, sehingga kurang efektif diaplikasikan sebagai DNA *barcode* pada anggrek *Dendrobium* sp. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh (Perwitasari et al., (2020) penggunaan barcode *rbcL* pada *D. discolor* Tanimbar menunjukkan variasi yang rendah pada sekuen yang disejajarkan yaitu hanya terdapat dua perbedaan basa nukleotida.

b. Konstruksi Pohon Filogenetik

Urutan nukleotida dari daerah genom diperlukan sebagai alat untuk identifikasi spesies untuk menghasilkan pohon filogenetik. Pada penelitian ini, metode *Neighbor-Joining* (NJ) digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan jarak evolusinya. Selain itu, digunakan untuk mengidentifikasi hubungan kekerabatan antara sampel *Dendrobium* sp. dengan sampel anggrek hasil analisis BLAST NCBI (Mailund et al., 2006). Hasil konstruksi pohon filogenetik sampel *Dendrobium* sp. menunjukkan bahwa spesies tersebut berkerabat dekat dengan *C. alpina* dan *Bulbophyllum lilacinum* dengan nilai bootstrap 62 dalam 1000 kali pengulangan (Gambar 4).



Gambar 4. Pohon filogenetik yang dikonstruksi dari sekuen *rbcL* *Dendrobium* sp. dengan *software* MEGA11

Keakuratan analisis filogenetik divalidasi dengan 1000 kali ulangan, dengan nilai bootstrap dikategorikan menjadi kategori kuat (>85%), sedang (70-85%), lemah (50-69%), dan rendah (<50%) (Kress et al., 2002). Sampel *Dendrobium* sp. pada penelitian ini, berada pada satu klaster dengan *C. alpina* dan *B. lilacinum* yang menggambarkan kedekatan hubungan kekerabatan dengan kategori nilai bootstrap lemah. Menurut (Perwitasari et al. (2020) variasi genetik yang rendah pada sekuen *rbcL* menyebabkan gen tersebut kurang efektif digunakan sebagai DNA barcode pada tingkat spesies. *rbcL* mengkode protein RuBisCo yang berperan dalam fiksasi karbon saat proses fotosintesis. Salah satu karakter dari DNA kloroplast bersifat lebih konservatif dengan tingkat substitusi nukleotida yang rendah (Sundari et al., 2019). Hal tersebut didukung dengan pernyataan (Asahina et al. (2010) *rbcL* kurang mampu membedakan spesies dapat disebabkan karena substitusi nukleotida yang lambat dibanding dengan gen nukleus lainnya. Penggunaan DNA barcoding saat ini dikenal sebagai salah satu aspek dalam manajemen konservasi genetik (Kim et al., 2014). Selain

rbcL, *maturase-K* (*matK*) dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS) juga direkomendasikan sebagai DNA barcode pada tanaman (Feng et al., 2015).

Kesimpulan

Tingkat homologi tertinggi berdasarkan hasil analisis BLAST yaitu dengan *Calanthe alpina* dengan tingkat kemiripan secara genetik sebesar 99,82%. Tingkat kemiripan yang tinggi menunjukkan tingginya homologi kedua sekuen, disebabkan karena variasi genetik antar spesies tersebut rendah. Marker *rbcL* menunjukkan hasil yang universal untuk *Dendrobium* sp., sehingga perlu didukung dengan identifikasi molekuler marker lainnya seperti *matK* dan ITS.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Bu Ulfatul Inayah selaku teknisi Sub Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember yang telah menyediakan sampel untuk kegiatan penelitian.

Referensi

- Ardalan, M.-R., & Rafieian-Kopaei, M. (2013). Is the safety of herbal medicines for kidneys under question? *Journal of Nephropharmacology*, 2(2), 11–12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28197435> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5297543>
- Asahina, H., Shinozaki, J., Masuda, K., Morimitsu, Y., & Satake, M. (2010). Identification of medicinal *Dendrobium* species by phylogenetic analyses using matK and rbcL sequences. *Journal of Natural Medicines*, 64(2), 133–138. <https://doi.org/10.1007/s11418-009-0379-8>
- Chenna, R., Sugawara, H., Koike, T., Lopez, R., Gibson, T. J., Higgins, D. G., & Thompson, J. D. (2003). Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3497–3500. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg500>
- Chung, H. H., Shi, S. K., Huang, B., & Chen, J. T. (2017). Enhanced agronomic traits and medicinal constituents of autotetraploids in *Anoectochilus formosanus* Hayata, a top-grade medicinal orchid. *Molecules*, 22(11). <https://doi.org/10.3390/molecules22111907>
- De, L. C., Rao, A. N., Rajeevan, P. K., Srivastava, M., & Chhetri, G. (2015). Morphological Characterization in *Dendrobium* Species. *Journal of Global Biosciences*, 4(August), 1198–1215. www.mutagens.co.in
- Ekman, S. (1999). PCR optimization and troubleshooting, with special reference to the amplification of ribosomal DNA in lichenized fungi. *Lichenologist*, 31(5), 517–531. <https://doi.org/10.1006/lich.1999.0226>
- Feng, S., Jiang, Y., Wang, S., Jiang, M., Chen, Z., Ying, Q., & Wang, H. (2015). Molecular identification of *dendrobium* species (Orchidaceae) based on the dna barcode *its2* region and its application for phylogenetic study. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 21975–21988. <https://doi.org/10.3390/ijms160921975>
- Hartati, S., Samanhudi, & Cahyono, O. (2022). Short Communication: Morphological characterization of five species of *Dendrobium* native to Indonesia for parent selection. *Biodiversitas*, 23(5), 2648–2654. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230548>
- Ho, V. T., 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), 93. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00188-1>
- Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank, M., Chase, M. W., Cowan, R. S., Erickson, D. L., Fazekas, A. J., Graham, S. W., James, K. E., Kim, K. J., John Kress, W., Schneider, H., van AlphenStahl, J., Barrett, S. C. H., van den Berg, C., Bogarin, D., ... Little, D. P. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12794–12797. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106>
- Indraloka, A. B., Dewanti, P., & Restanto, D. P. (2019). Morphological Characteristics and Pollinia Observation of 10 Indonesia Native *Dendrobium* Orchids. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal*, 5(2). <https://doi.org/10.24233/biov.5.2.2019.140>
- Kasutjaniangati, K., & Firgiyanto, R. (2018). Characterization of Morphology from Orchid *Vanda* sp. as a Genetic Information Source for Preservation and Agribusiness of Orchids in Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 207(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/207/1/012006>
- Kim, H. M., Oh, S. H., Bhandari, G. S., Kim, C. S., & Park, C. W. (2014). DNA barcoding of orchidaceae in Korea.

- Molecular Ecology Resources*, 14(3), 499–507. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12207>
- Kress, W. J., & 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). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Kress, W. J., Prince, L. M., & Williams, K. J. (2002). The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): Evidence from molecular data. *American Journal of Botany*, 89(10), 1682–1696. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.10.1682>
- Mailund, T., Brodal, G. S., Fagerberg, R., Pedersen, C. N. S., & Phillips, D. (2006). Recrafting the neighbor-joining method. *BMC Bioinformatics*, 7, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-7-29>
- Malik, S., Priya, A., & Babbar, S. B. (2019). Employing barcoding markers to authenticate selected endangered medicinal plants traded in Indian markets. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(2), 327–337. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0610-8>
- Maulidya, N. N., Rohimah, S., Ramadany, Z., Ratnasari, T., & Su'udi, M. (2020). Assessment of the DNA Barcodes Characteristic of *Phalaenopsis deliciosa* based on *matK*, *rbcL*, and ITS. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 138. <https://doi.org/10.24252/bio.v8i2.13278>
- Millar, A. (1978). Orchids of Papua New Guinea. In *HortTechnology* (pp. 1–101). Australian National University.
- Moudi, M., Yien, C. Y. S., Nazre, M., Abdullah, J. O., & Go, R. (2013). Phylogenetic Analysis Among Four Sections of Genus *Dendrobium* Sw. (Orchidaceae) Based on Low Copy Nuclear Gene (*Xdh*) Sequences in Peninsular Malaysia. *يوند ناسارخ، دنجريد* *International Journal of Bioassays*, 2(6), 932–937.
- Perwitasari, D. A. G., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., & Su'udi, M. (2020). DNA Barcoding of Medicinal Orchid *Dendrobium discolor* Lindl. Tanimbar Using *rbcL* and ITS genes. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 31(1), 8. <https://doi.org/10.21082/bullittro.v31n1.2020.8-20>
- Pham, D. T. K., Huynh, B. V., & Mai, T. (2021). Genetic relationship analysis of *Dendrobium anosmum* Lindl. var. *semialba* based on the chloroplast *matK* and *rbcL* genes. *The Journal of Agriculture and Development*, 20(03), 41–49. <https://doi.org/10.52997/jad.6.03.2021>
- Ramesh, T., Koperuncholan, M., Praveena, R., Ganeshkumari, K., Vanithamani, J., Muruganantham, P., & Renganathan, P. (2019). Medicinal properties of some *Dendrobium* orchids – A review. *Journal of Applied and Advanced Research*, August, 119–128. <https://doi.org/10.21839/jaar.2019.v4i4.72>
- Schuiteman, A. (1995). Key To The Genera of Orchidaceae of New Guinea. *Flora Malesiana Bulletin*, 11(6), 401–423.
- Schuiteman, A., Vermeulen, J. J., & de Vogel, E. F. (2010). *Flora Malesiana: orchids of New Guinea vol. I-VI. CD-ROM.: Vol. VI.* Margraf Publisher.
- Silalahi, M., & Nisyawati. (2015). Pemanfaatan Anggrek Sebagai Obat Tradisional Pada Etnis Batak Sumatera Utara. *Berita Biologi*, 14(2), 187–193.
- Su'udi, M., Ulu, F. B., Ardiyansah, M., & Fitri, N. E. (2024). Evaluasi Lokus Potensial *matK* dan ITS2 Untuk DNA Barcoding Anggrek *Bulbophyllum lobbii* Lindl. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 17(2), 406–418. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.33897>
- Sundari, Khadijah, Jayali, A. M., & Sukanto, N. H. (2019). The application of barcode DNA *rbcL* gene for identification of medicinal plants: Red jabon and gofasa. *Journal of Physics: Conference Series*, 1146(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1146/1/012030>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary

Genetics Analysis Version 11.
Molecular Biology and Evolution, 38(7),
3022–3027.

<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Wahyudiningsih, T. S., Nion, Y. A., & . P.
(2017). Pemanfaatan Anggrek Spesies
Kalimantan Tengah Berbasis Kearifan
Lokal yang Berpotensi sebagai Bahan
Obat Herbal. *Jurnal Biodjati*, 2(2), 149–
158.

<https://doi.org/10.15575/biodjati.v2i2.1570>

Zhang, J., Onakpoya, I. J., Posadzki, P., &
Eddouks, M. (2015). The safety of herbal
medicine: From prejudice to evidence.
*Evidence-Based Complementary and
Alternative Medicine*, 2015.

<https://doi.org/10.1155/2015/316706>

Ziyaroh, P. L., Rosida, W., Dwinianti, E. F., &
Su, M. (2024). *Propagation of
Dendrobium crumenatum Sw . through
In Vitro Seed Culture Using Organic
Complex Media*. 2(2), 64–68.