

Analysis of *matK* and *trnL-trnF* Intergenic Spacer on Pandan (*Benstonea* sp.) From Kualu Village, Riau Province, Indonesia

Fadel Nugraha¹, Putri Tri Sofhya¹, Fatma Jumaita Putri¹, Herman¹, Dewi Indriyani Roslim^{1*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Article History

Received : September 16th, 2025

Revised : October 23th, 2025

Accepted : November 20th, 2025

*Corresponding Author:

Dewi Indriyani Roslim,

Program Studi Biologi, Fakultas
Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas

Riau, Riau, Indonesia;

Email:

dewiindriyaniroslim@gmail.com

Abstract: Molecular characterization using DNA barcodes is essential for clarifying taxonomic relationships and confirming species identity within the genus *Benstonea*. Pandan (*Benstonea* sp.) has potential as a source of bioactive compounds, a subject of genetic and taxonomic studies, and a component of biodiversity that supports conservation and the development of tissue culture for secondary metabolite production. This study aims to analyze the DNA barcode regions *matK* and *trnL-trnF intergenic spacer (IGS)* on *Benstonea* sp. collected from Kualu Village, Riau Province, Indonesia. The fresh leaves of this plant were used for DNA extraction using the Geneaid Mini Plant kit, PCR following Thermo Scientific protocols, agarose gel electrophoresis, sequencing, and data analysis using BioEdit, BLASTn, and MEGA 11.0. In this study had been obtained DNA sequences of *matK* and *trnL-trnF IGS* with the size of 846 bp and 964, respectively. Based on BLASTn analysis of the sequences, it showed that the pandan species originating from Kualu Village (Kampar Regency) and Langgam Village (Pelalawan Regency) have similarities with accessions from other genera of the Pandanaceae family (average query cover value reaches 100%). Phylogenetic analysis of the *trnL-trnF IGS* showed that the pandan plants studied were in the same group as *Benstonea* sp. 'Kajuik Lake' DIR01 and were clearly separated from the *Pandanus* and *Martellidendron* groups. The *trnL-trnF IGS* can be used to differentiate and group species of the genera *Benstonea* and *Pandanus* into distinct clades, whereas the *matK* was only effective for classification at the genus level. The sequences were submitted to GenBank and were available for use in the molecular identification of this plant.

Keywords: *Benstonea* sp., DNA barcoding, *matK*, Riau, *trnL-trnF intergenic spacer*.

Pendahuluan

Famili Pandanaceae mencakup beberapa genus seperti *Pandanus*, *Benstonea*, dan *Freycinetia*, dengan banyak spesies yang tersebar di wilayah tropis. Penelitian di Indonesia telah melaporkan keberadaan berbagai spesies *Pandanus*, termasuk *P. amaryllifolius*, *P. aristatus*, dan *P. tectorius*, yang secara luas dimanfaatkan oleh masyarakat setempat untuk berbagai keperluan (Sisillia *et al.*, 2024; Tanzerina *et al.*, 2022; Parinding, 2021). Tanaman ini umum digunakan untuk

membuat kerajinan tangan, bahan bangunan, pangan, obat tradisional, dan upacara adat, dengan bagian daun sebagai bagian yang paling sering dimanfaatkan (Tanzerina *et al.*, 2022). Beberapa spesies dibudidayakan, sementara lainnya masih tumbuh secara liar di alam (Sisillia *et al.*, 2024).

Identifikasi secara morfologi sebelumnya menunjukkan bahwa pandan asal Desa Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau termasuk dalam *Pandanus* sp. (famili Pandanaceae). Namun, penentuan spesies secara pasti belum dapat dilakukan

karena tidak ditemukannya bunga saat proses identifikasi. Penelitian lanjutan kemudian dilakukan menggunakan metode identifikasi molekuler melalui teknik *DNA barcoding*, dan hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada sekuens pandan di GenBank yang memiliki kemiripan 100% dengan genus *Pandanus*. Berdasarkan analisis molekuler tersebut, pandan dari Riau kemudian diklasifikasikan sebagai anggota genus *Benstonea*. (Roslim, 2017).

Barkode DNA merupakan fragmen pendek dari sekuens DNA genomik yang terdapat pada seluruh organisme hidup dan telah banyak diterapkan dalam proses identifikasi molekuler secara luas. Pada tumbuhan, tiga penanda utama yang umum digunakan sebagai DNA barcode adalah *matK*, *rbcL*, dan *trnL-trnF intergenic spacer*. Wilayah penanda DNA menggunakan gen *matK* dan *trnL-trnF intergenic spacer* (IGS) menunjukkan laju mutasi yang relatif tinggi, ditandai dengan tingkat konservasi yang rendah serta adanya mutasi, baik substitusi maupun indel. Sebaliknya, gen *rbcL* bersifat sangat konservatif dengan laju mutasi yang rendah. Hal ini menjadikan *matK* dan *trnL-trnF IGS* sering digunakan sebagai barkode DNA dalam studi filogenetik dan identifikasi spesies (Roslim 2019).

Desa Kualu di Provinsi Riau, Indonesia, merupakan salah satu wilayah dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, termasuk spesies *Benstonea* yang tumbuh secara alami. Namun, hingga kini belum terdapat laporan sekuens barkode DNA seperti *matK* dan *trnL-trnF intergenic spacer* untuk spesies ini dari wilayah tersebut, yang menghambat upaya identifikasi dan pelestarian sumber daya genetik lokal. Oleh karena itu, analisis sekuens *matK* dan *trnL-trnF intergenic spacer* dari *Benstonea sp.* yang berasal dari Desa Kualu menjadi penting untuk mendukung penguatan data molekuler dalam taksonomi dan konservasi tumbuhan tropis di Indonesia.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman pandan

(*Benstonea sp.*) yang tumbuh di Desa Kualu, Kubang, Kecamatan Tambang, Kabupaten Kampar, dan Desa Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau, Indonesia. Pemilihan kedua lokasi ini dilakukan untuk memperoleh variasi genetik alami dari populasi yang berbeda, memastikan kualitas identifikasi molekuler, dan memberikan data pembandingan antarwilayah dalam analisis DNA barkoding. Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR untuk penanda *matK* dan *trnL-trnF IGS*; sekuensing DNA dan penyuntingan sekuens menggunakan BioEdit; serta; analisis BLASTn dan filogenetik menggunakan MEGA 11.

Pasangan primer untuk amplifikasi barkode DNA *matK* dan *trnL-trnF intergenic spacer* (Roslim et al. 2024) (Tabel 1).

Tabel. 1 Primer untuk amplifikasi *matK* dan *trnL-trnF IGS*.

Nama primer	5'-----3'
P- <i>matK</i> -F	GCGATTCTTTCTCCATG
P- <i>matK</i> -R	GGTCCAGATCGGCTTACTA
B49873_F3	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC
A50272_R3	ATTGAACTGGTGACACGAG

Ekstraksi DNA Total

Isolasi DNA total mengikuti prosedur kerja dari *Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid)*. Sampel daun seberat 100 mg dimasukkan ke dalam mortar dan ditambahkan nitrogen cair, lalu digerus dengan pestle hingga berbentuk serbuk. Serbuk daun dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml. Ekstraksi DNA selanjutnya mengikuti instruksi pabrik (Geneaid) (Roslim et al., 2020). Elektroforesis DNA total dilakukan pada gel agarosa 1% yang ditambahkan 3 µl larutan ethidium bromide (EtBr) di dalam 100 ml 1X TBE pH 8 dengan tegangan listrik 50 volt selama 40 menit. Lampu UV transilluminator digunakan untuk visualisasi pita DNA total dan difoto menggunakan kamera berfilter UV.

Amplifikasi dengan Teknik PCR (*polymerase chain reaction*)

Prosedur PCR dilakukan dengan total volume reaksi sebesar 50 µl terdiri dari: 1 ng DNA total, 1x *buffer* PCR (+Mg²⁺), 0,2 mM dNTPs, 2,4 µM primer *forward*, 2,4 µM primer *reverse*, 2 Unit *DreamTaq DNA polymerase*, dan

ddH₂O hingga volume akhir tercapai (Roslim *et al.* 2024). Proses PCR dimulai dengan denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 94°C, diikuti oleh 35 siklus yang meliputi denaturasi selama 45 detik pada suhu 95°C, *annealing* selama 45 detik pada suhu 49,2°C untuk *trnL-trnF* IGS dan 47,2°C for *matK*, serta elongasi selama 90 detik pada 72°C. Reaksi diakhiri dengan pasca-PCR selama 10 menit pada suhu 72°C. Keberhasilan amplifikasi DNA diperiksa melalui elektroforesis gel agarosa. Sebanyak 2 µl produk PCR dicampur dengan 2 µl larutan *loading dye* dan dimasukkan ke dalam sumur gel, selama 45 menit dengan tegangan 50 volt. Hasil PCR divisualisasikan menggunakan lampu UV transilluminator, dan dokumentasi dilakukan dengan kamera berfilter UV.

Sekuensing

Tabung PCR yang berisi produk PCR (lebih kurang 45 µL) dan masing-masing primer *forward* dan *reverse* sebanyak 30 µL di dalam tabung 1,5 mL ditutup rapat dengan bantuan parafilm. Produk PCR dan primer tersebut dikirim ke PT Genetika *Science* Indonesia sebagai agen perantara sekuensing dari perusahaan 1st Base Malaysia (Roslim *et al.*, 2023).

Analisis Data

Data sekuens DNA *forward* dan *reverse* disatukan menggunakan program BioEdit versi 7. Sekuens DNA tersebut dianalisis menggunakan program BLASTn untuk menentukan kemiripannya dengan sekuens yang ada di database GenBank di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Sepuluh aksesori teratas yang muncul pada hasil analisis BLASTn diunduh untuk keperluan analisis menggunakan program MEGA versi 11.

Hasil dan Pembahasan

Analisis sekuens *matK* *Benstonea* sp. dari Pelalawan dan Kubang

Sekuens DNA *matK* pandan asal Desa Kualu, Kubang, Kecamatan Tambang, Kabupaten Kampar dan Desa Langgam, Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, telah diperoleh dengan panjang 846 pb. Masing-

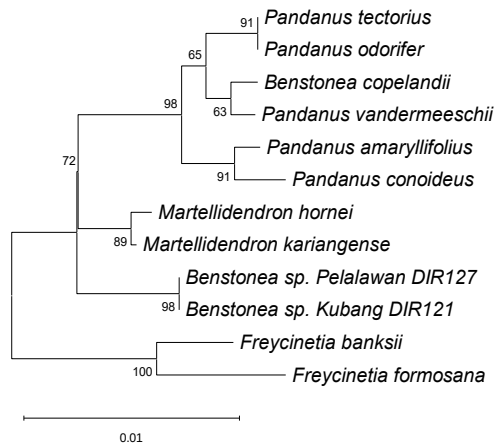
masing telah didaftarkan di GenBank dengan nomor aksesori OQ325045 (*Benstonea* sp. Kubang DIR 121) dan OQ942622 (*Benstonea* sp. Pelalawan DIR 127), secara berturut-turut. Sekuens *matK* dari kedua lokasi tersebut memiliki kesamaan sekuens (100%) yang menunjukkan keduanya adalah spesies yang sama, namun belum dapat ditentukan nama spesiesnya.

Hasil pensejajaran menggunakan BLASTn, menunjukkan bahwa sekuens *matK* pandan asal Kubang dan Pelalawan memiliki kemiripan tinggi dengan spesies *Martellidendron hornei* (99,17%) dan *Martellidendron kariangense* (99,27%) dengan nilai *query cover* sebesar 100% dan *E-value* 0,00 (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis BLASTn pada sekuens DNA *matK* pandan (*Benstonea* sp.) asal Desa Kualu dan Pelalawan, Provinsi Riau

No. Aksesori		Query Cover (%)	Persen Identiti (%)	Nomor Aksesori
1	<i>Martellidendron hornei</i>	100	99,17	MT046147.1
2	<i>Pandanus tectorius</i>	100	98,70	NC_042747.1
3	<i>Pandanus odorifer</i>	100	98,70	NC_070192.1
4	<i>Pandanus amaryllifolius</i>	100	98,70	NC_070105.1
5	<i>Benstonea copellandii</i>	100	98,70	NC_057311.1
6	<i>Pandanus vandermeeschii</i>	100	98,70	JQ435565.1
7	<i>Pandanus conoideus</i>	100	98,58	LC491428.1
8	<i>Freycinetia banksii</i>	100	98,23	KT205118.1
9	<i>Martellidendron kariangense</i>	96	99,27	JX286737.1
10	<i>Freycinetia formosana</i>	100	97,99	AB040209.2

Tidak ditemukan kemiripan dengan nilai persentase 100% terhadap sekuens manapun. Sesuai dengan hasil penelitian Roslim *et al.* (2016), dimana hasil seperti ini mengindikasikan dua kemungkinan: (1) spesies ini telah teridentifikasi, namun sekuens DNA *matK* belum tersedia di GenBank, atau (2) spesies tersebut merupakan spesies baru atau pernah diidentifikasi sebelumnya. Pensejajaran sekuens tidak hanya digunakan untuk mengidentifikasi spesies baru, tetapi juga berperan dalam mengungkap hubungan filogenetik antar spesies. Saif (2022) menjelaskan bahwa pensejajaran bertujuan untuk mengidentifikasi karakter homolog, yaitu karakter yang diturunkan dari leluhur yang sama.



Gambar 1. Pohon filogenetik berdasarkan sekuens DNA *matK* dengan metode *Neighbor Joining tree*, model Kimura-2-parameter, 1000 kali bootstrap.

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa sekuens DNA *matK* tidak dapat memisahkan secara jelas genus di dalam famili Pandanaceae (Gambar 1). Hasil penelitian ini sejalan dengan yang ditemukan Roslim (2017).

Analisis filogenetik dilakukan dengan pengulangan *bootstrap* sebanyak 1000 kali untuk meningkatkan kestabilan dan keandalan pengelompokan klad yang terbentuk. Pohon filogenetik dibangun dengan skala evolusi 0,01, yang mengindikasikan adanya satu perubahan nukleotida per 100 pasangan basa (Hanifa *et al.*, 2021). Menurut Xi (2015), pendekatan *bootstrap* tersebut digunakan untuk menguji tingkat kepercayaan pada setiap percabangan dalam pohon filogenetik yang dihasilkan.

Tabel 3. Perbedaan nukleotida pada sekuens DNA *matK*

No Akses	Posisi nukleotida ke-																																				
	1	1	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
	5	0	1	3	8	4	5	1	4	5	7	8	9	1	1	1	4	5	7	8	9	5	5	8	1	5	6	8	9	0	2	3	3	5	8	8	3
	2	6	1	9	9	5	9	5	8	1	6	9	6	1	4	5	9	8	8	2	3	6	7	2	7	1	6	6	9	7	0	4	8	3	1	4	9
1. <i>Benstonea</i> sp. Pelalawan DIR127	CGT	T	C	C	C	G	C	A	A	C	C	C	G	T	C	C	C	T	A	C	G	T	T	A	A	T	C	T	A	T	G	A	A	A	T		
2. <i>Benstonea</i> sp. Kubang DIR121	...	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3. <i>Martellidendron hornei</i>	...	.	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	A	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	
4. <i>Pandanus tectorius</i>	...	.	A	C	.	.	G	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	C	.	.	G	.	.	C	.	G	.	.	C	.	C	
5. <i>Pandanus odorifer</i>	...	.	A	C	.	.	G	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	C	.	.	G	.	.	C	.	G	.	.	C	.	C	
6. <i>Pandanus amaryllifolius</i>	...	.	A	C	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	G	C	.	G	.	.	C	.	
7. <i>Benstonea copelandii</i>	...	.	A	C	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	G	A	.	.	.	G	.	C	.	.	.	.	.	.	C	.	G	.	.	C	.	C	
8. <i>Pandanus vandermeeschii</i>	...	.	A	C	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	A	.	.	.	G	.	C	G	.	.	.	.	.	.	C	.	G	.	.	C	.	C	
9. <i>Pandanus conoideus</i>	...	.	A	C	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	G	.	C	.	G	.	.	G	C	.	G	.	.	C	.	C	
10. <i>Freycinetia banksii</i>	...	.	C	.	T	.	T	.	G	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.	G	.	A	.	C	A	.	G	G	C	.	C	.	
11. <i>Martellidendron kariangense</i>	...	.	C	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	C
12. <i>Freycinetia formosana</i>	T	.	C	T	T	.	T	.	G	.	.	A	.	T	.	T	.	.	.	.	C	.	G	.	A	G	.	C	A	.	G	C	.	G	C	.	

Keterangan:

Titik (.) menunjukkan bahwa nukleotida pada posisi tertentu sama dengan nukleotida *Benstonea* sp. Pelalawan DIR127.

Nukleotida dalam kotak merupakan nukleotida kritis atau penciri untuk identifikasi *Benstonea* sp. asal Kubang dan Pelalawan (Riau).

Analisis sekuens DNA menggunakan gen *matK* mengidentifikasi sebanyak 37 variasi nukleotida yang seluruhnya disebabkan oleh mutasi substitusi, tanpa ditemukan adanya mutasi berupa insersi-delesi. Dari hasil analisis tersebut, ditemukan empat posisi nukleotida yang bersifat kritis, yakni pada posisi ke-111, 582, 734, dan 839. Nukleotida kritis merujuk pada nukleotida yang berperan sebagai penciri, dalam hal ini digunakan untuk mengidentifikasi *Benstonea* sp. asal Riau (Pelalawan dan Kubang). Temuan ini konsisten dengan pernyataan Roslim & Fitriani (2021), yang menjelaskan bahwa nukleotida

kritis merupakan nukleotida pembeda antara spesimen tanaman yang diteliti dengan aksesori lainnya. Pada posisi-posisi tersebut, *Benstonea* sp. dari Pelalawan dan Kubang menunjukkan keberadaan basa timin (T), sementara spesies lainnya memiliki basa sitosin (C), sebagaimana ditampilkan pada Tabel 3.

Analisis sekuens *trnL-trnF* IGS *Benstonea* sp. Pelalawan dan Kubang

Sekuens DNA pandan (*Benstonea* sp.) asal Desa Kualu, Kubang, Kecamatan Tambang, Kabupaten Kampar, dan Desa Langgam,

Kabupaten Pelalawan, Riau telah dianalisis menggunakan penanda molekuler *trnL-trnF* IGS dan didaftarkan pada basis data GenBank dengan nomor akses berturut-turut OQ174522.1 dan OQ942621. Wilayah *trnL-trnF* IGS merupakan sekuens DNA non-penyandi yang terletak di antara gen *trnL* dan *trnF* (Roslim *et al.*, 2023).

Hasil analisis BLASTn berdasarkan sekuens DNA *trnL-trnF* IGS menunjukkan kesamaan sebesar 100% dengan spesies *Benstonea* sp. 'Kajuik Lake' DIR019. Sementara itu, tingkat kemiripan dengan spesies lain hanya berkisar antara 98–99%. Spesimen dari Danau Kajuik juga menunjukkan nilai *query cover* sebesar 100% dan *E-value* sebesar 0,00 (Tabel 4).

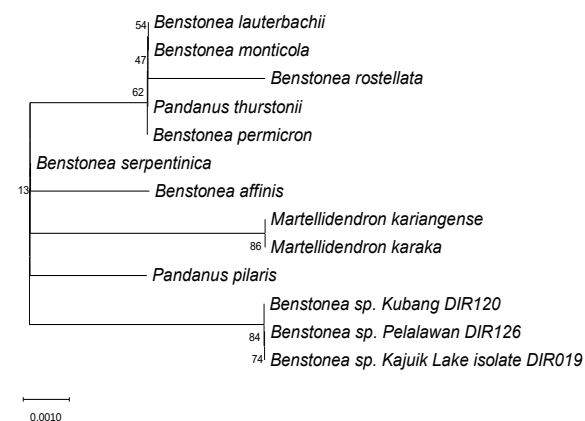
Tabel 4. Hasil analisis BLASTn sekuens DNA *trnL-trnF* IGS pandan (*Benstonea* sp.) asal Kubang dan Pelalawan, Provinsi Riau.

No.	Akses	Query Cover (%)	Percent Identity (%)	Accession
1	<i>Benstonea</i> sp. 'Kajuik Lake' DIR019	100	100,00	KY649618.1
2	<i>Benstonea serpentinica</i>	100	99,49	KX545017.1
3	<i>Benstonea permicron</i>	100	99,24	KX545023.1
4	<i>Pandanus thurstonii</i>	100	99,24	JX287040.1
5	<i>Pandanus pilaris</i>	100	99,24	JX286961.1
6	<i>Benstonea rostellata</i>	100	98,99	KX545016.1
7	<i>Benstonea lauterbachii</i>	99	99,24	KJ681568.1
8	<i>Benstonea monticola</i>	99	99,24	KJ681562.1
9	<i>Benstonea affinis</i>	99	99,24	KJ681518.1
10	<i>Martellidendron kariangense</i>	100	98,49	JX286903.1
11	<i>Martellidendron karaka</i>	100	98,25	JX286904.1

Temuan ini memberikan indikasi kuat bahwa pandan (*Benstonea* sp.) asal Kubang dan Pelalawan merupakan spesies yang sama dengan *Benstonea* sp. yang ditemukan di Danau Kajuik yang berlokasi di Desa Langgam, Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau. Pernyataan ini sejalan dengan Roslim & Herman (2017), yang menyatakan bahwa jika suatu sampel tumbuhan menunjukkan tingkat kemiripan 100% dengan spesies yang telah terdaftar di GenBank, maka sampel tersebut dapat diidentifikasi sebagai spesies yang sama.

Analisis filogenetik berdasarkan sekuens DNA *trnL-trnF* IGS menunjukkan bahwa spesies pandan asal Desa Kualu, Kabupaten Kampar dan Kabupaten Pelalawan tergolong dalam klad yang sama dengan *Benstonea* sp. 'Kajuik Lake' DIR019 (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan bahwa pandan asal Kubang dan Pelalawan memiliki kekerabatan yang sangat dekat atau

kemungkinan merupakan spesies yang sama dengan padan asal Danau Kajuik. Ketiganya membentuk kelompok tersendiri yang berbeda dari spesies lain dalam famili Pandanaceae. Berdasarkan struktur dendrogram yang terbentuk, penanda *trnL-trnF* IGS terbukti mampu memisahkan dan mengelompokkan spesies dari genus *Benstonea* dan *Pandanus* secara jelas, menunjukkan efektivitasnya dalam klasifikasi intra-familial Pandanaceae. Temuan ini didukung oleh Roslim (2017) yang menyatakan bahwa penanda *trnL-trnF* IGS telah banyak digunakan untuk identifikasi spesies dan analisis filogenetik dalam famili tersebut.



Gambar 2. Pohon filogenetik berdasarkan sekuens DNA *trnL-trnF* IGS dengan metode *Neighbor Joining tree*, model Kimura-2-parameter, 1000 kali bootstrap.

Pohon filogenetik memberikan representasi visual yang akurat dalam menggambarkan hubungan evolusioner antarspesies. Penentuan kekerabatan berdasarkan sekuens DNA melalui pohon filogenetik dinilai lebih andal dan stabil dibandingkan pendekatan morfologi, yang rentan terhadap perubahan akibat faktor lingkungan. Mursyidin & Irfan (2020) menyatakan bahwa penggunaan sekuens DNA dalam penyusunan pohon filogenetik memungkinkan pengujian homologi karakter yang lebih akurat, sehingga mendukung pemahaman yang lebih baik mengenai hubungan kekerabatan alami antarspesies.

Analisis sekuens DNA menggunakan gen *trnL-trnF* IGS mengidentifikasi sebanyak 14 variasi nukleotida yang disebabkan oleh mutasi substitusi, serta enam kejadian mutasi berupa insersi-delesi. Ditemukan dua posisi nukleotida kritis dalam sekuens *trnL-trnF* IGS, yaitu pada posisi ke-277 dan 278.

Tabel 5. Perbedaan nukleotida pada sekuens *trnL-trnF* IGS

No	Akses	Posisi nukleotida ke-											
		1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
		5	5	5	8	1	6	4	7	7	9	6	9
		3	4	5	4	0	0	9	7	8	5	9	7
1	<i>Benstonea</i> sp. Pelalawan DIR126	-	-	-	T	A	C	A	T	C	T	G	A
2	<i>Benstonea</i> sp. Kubang DIR120	-	-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	<i>Benstonea</i> sp. Kajuik Lake isolate DIR019	-	-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4	<i>Benstonea serpentinica</i>	-	-	-	.	.	.	.	A	A	.	.	.
5	<i>Benstonea permicron</i>	-	-	-	C	.	.	.	A	A	.	.	.
6	<i>Pandanus thurstonii</i>	-	-	-	C	.	.	.	A	A	.	.	.
7	<i>Pandanus pilaris</i>	-	-	-	.	G	.	.	A	A	.	.	.
8	<i>Benstonea rostellata</i>	-	-	-	C	.	.	.	A	A	.	A	.
9	<i>Benstonea lauterbachii</i>	-	-	-	C	.	.	.	A	A	.	.	.
10	<i>Benstonea monticola</i>	-	-	-	C	.	.	.	A	A	.	.	.
11	<i>Benstonea affinis</i>	-	-	-	.	.	.	C	A	A	.	.	.
12	<i>Martellidendron kariangense</i>	T	T	-	.	.	T	.	A	A	G	.	.
13	<i>Martellidendron karaka</i>	T	T	T	.	.	T	.	A	A	G	.	.

Keterangan:

Titik (.) menunjukkan bahwa nukleotida pada posisi tertentu sama dengan nukleotida *Benstonea* sp. Pelalawan DIR127.

Nukleotida dalam kotak merupakan nukleotida kritis atau penciri untuk identifikasi *Benstonea* sp. asal Kubang dan Pelalawan (Riau).

Pada posisi ke-277, sekuens *trnL-trnF* IGS *Benstonea* sp. dari Pelalawan dan Kubang memiliki basa timin (T), sedangkan spesies lain menunjukkan basa adenin (A). Sementara itu, pada posisi ke-278, spesimen yang sama memiliki basa sitosin (C), sementara spesies lainnya memiliki adenin (A) (Tabel 5). Menariknya, *Benstonea* sp. asal Danau Kajuik juga menunjukkan pola nukleotida identik pada posisi tersebut, memperkuat hipotesis bahwa ketiga spesimen tersebut memiliki hubungan taksonomi yang erat atau tergolong dalam spesies yang sama. Hasil ini mendukung efektivitas pendekatan barkoding DNA dalam memverifikasi status taksonomi suatu organisme berdasarkan variasi nukleotida spesifik yang disebut sebagai nukleotida kritis (Roslim, 2017).

Berdasarkan hasil analisis molekuler yang diperoleh, diperlukan pendekatan lanjutan melalui karakterisasi morfologis guna memperkuat dugaan taksonomi yang telah terbentuk. Roslim (2017) melaporkan bahwa pandan dari Danau Kajuik memiliki ciri morfologis berupa habitus perdu dengan tinggi mencapai 62 cm, memiliki satu rumpun daun dan buah tunggal. Daunnya berduri di bagian tepi, serta memiliki duri pada urat utama di permukaan bawah dan ujung urat utama pada permukaan atas daun. Karakter morfologi ini

menunjukkan kemiripan dengan pandan yang berasal dari Desa Kuala, sehingga mendukung hasil identifikasi molekuler sebelumnya.

Keanekaragaman genetik suatu spesies berhubungan erat dengan proses mutasi, yang merupakan salah satu penyebab utama perubahan alel maupun struktur kromosom secara spontan. Menurut Karmana dalam Mursyidin & Irfan (2020), mutasi merupakan faktor utama dalam proses evolusi yang berbasis perubahan pada tingkat nukleotida. Oleh karena itu, keberagaman genetik berperan penting sebagai cadangan variasi untuk seleksi alam, serta sebagai komponen mendasar dalam proses evolusi biologis.

Metode barcode DNA memanfaatkan sekuens ortolog, yakni sekuens DNA yang memiliki asal evolusi yang sama dan fungsi konservatif pada spesies yang berbeda. Pendekatan ini memungkinkan diskriminasi yang akurat antarspesies karena tingkat variabilitasnya yang cukup tinggi. Barcode DNA memiliki potensi besar dalam mengidentifikasi spesies tumbuhan yang telah diketahui maupun yang belum terdokumentasi secara taksonomis. Namun, keberhasilan proses identifikasi sangat bergantung pada ketersediaan data referensi dalam basis data publik seperti GenBank. Oleh karena itu, keberadaan dan keterbukaan sekuens

DNA dalam basis data publik menjadi aspek krusial dalam menunjang efektivitas metode identifikasi molekuler melalui pendekatan barcode DNA

Kesimpulan

Sekuens DNA *matK* dan *trnL-trnF* IGS telah diperoleh pada tanaman pandan (*Benstonea* sp.) yang berasal dari Kubang, Kabupaten Kampar dan Langgam, Kabupaten Pelalawan Provinsi Riau dan telah diregistrasi di GenBank. Sekuens DNA *trnL-trnF* IGS mampu membedakan dan mengelompokkan spesies *Benstonea* dan *Pandanus* ke dalam klad yang berbeda dibandingkan *matK*. Sekuens DNA yang telah diperoleh pada penelitian ini berpotensi mendukung upaya identifikasi molekuler dan konservasi sumber daya genetik tanaman pandan di Indonesia.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada LPPM Universitas Riau yang telah mendanai penelitian ini melalui dana Hibah Unggulan Universitas Riau sumber dana DIPA Universitas Riau dengan nomor kontrak 8345/UN19.5.1.3/AL.04/2023.

Referensi

- Hanifa, Y.R., Pujiyanto, S., Ferniah, R.S., & Kusumaningrum, H.P. (2021). Identifikasi Molekuler Jeruk Nipis Tegal Berdasarkan Fragmen Gen 18s Ribosomal RNA. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 8(2), 244-254. <https://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI/article/view/4883/4188>.
- Mursyidin, D.H., Irfan, M. (2020). Keanekaragaman dan kekerabatan genetic *Artocarpus* berdasarkan penanda DNA kloroplas *matK* dan *rbcL*: kajian in silico. *Floribunda*, 6(5), 195-206. <https://doi.org/10.32556/floribunda.v6i5.2020.322>.
- Parinding, Z. (2021). Identifikasi Jenis-Jenis Pandanaceae di Pulau Pepaya pada Kawasan Taman Nasional Teluk Cenderawasih (Identification of Pandanaceae types in Pepaya Island in the National Park Areas of Teluk Cenderawasih). *SCIENCE*, 1(1), 13. <https://doi.org/10.51878/science.v1i1.180>.
- Roslim, D.I. (2017). Identification of pandan plant (*Benstonea* sp.) from Riau, Indonesia using three DNA barcodes. *SABRAO Journal*, 49(4), 346-360. <https://sabraojournal.org/wp-content/uploads/2017/12/SABRAO-J-Breed-Genet-49-4-346-360-Roslim.pdf>
- Roslim, D.I. (2019). Analysis of *matK*, *rbcL* and *trnL-trnF* Intergenic Spacer Sequences on Durik-Durik (*Syzygium* sp.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1351, 012023. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1351/1/012023>.
- Roslim, D.I., Asih, H., Herman. (2020). Sekuen DNA Parsial dari Gen *gapdh* pada Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* L.). *Al-Kauniyah*, 13(2), 209-217. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i2.13964>.
- 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). <https://doi.org/10.35799/jbl.11.1.2021.31191>.
- Roslim, D.I., Nuraini, I.S., Nurhayati, I., Sianturi, C.V., Thahirah, A., & Herman. (2023). Analisis Empat Sekuen Barcode DNA pada Pandan (*Benstonea* sp.) Asal Danau Kajuik, Riau. *Al-Kauniyah*, 16(1), 98-114. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v16i1.21697>.
- Roslim, D.I., Herman, Budiono, D.Y.F., Cahyati, I.E., Lestari, W., Novita, L., & Priyadi, A. (2024). Analysis of *trnL-trnL-trnF*

intergenic spacer and *matK* sequences combined with morphological observations showed pucuk seminyak from Riau is *Champerea manillana* var. *manillana* Merr. *Journal of Tropical Life Science*, 14(3), 575–584. <https://doi.org/10.11594/jtls.14.03.13>.

Saif, R., Nadeem, S., Khaliq, A., Zia, S., & Iftekhhar, A. (2022). Mathematical understanding of sequence alignment and phylogenetic algorithms: A comprehensive review of computation of different methods. *Advancements in Life Sciences*, 9(4). <https://doi.org/10.62940/als.v9i4.1098>.

Sisillia, L., Sabalaka, S. & Kartikawati, S.M., (2024). Kajian pemanfaatan jenis-jenis *Pandanus* (Pandanaceae) oleh masyarakat Desa Nanga Keruap Kabupaten Melawi. *Jurnal Hutan Lestari*, 12(1), 22–34. <https://doi.org/10.24233/biov.8.2.2022.185>.

Tanzerina, N., Harmida, H. & Apriliani, D. (2022). Ethnobotanical study of Pandanaceae by the Besemah tribe, Lahat District, South Sumatera Province: Ethnobotany Pandanaceae. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal*, 8(2), 130–137. <https://doi.org/10.24233/biov.8.2.2022.185>.

Xi Z, Liu L, Davi CC. (2015). Genes with minimal phylogenetic information are problematic for coalescent analyses when gene tree estimation is biased. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 92, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.06.009>.