Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Multilocus Analysis of DNA Barcodes of *matK, rbcL,* and *ITS* in the Asteraceae Family

Vita Rosa[1*], Dewi Indriyani Roslim[1], Herman[1]

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

Article History
Received : March 07th, 2026
Revised : April 15th, 2026
Accepted : May 02th, 2026

*Corresponding Author: **Dewi Indriyani Roslim**, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;
Email: dewiindriyaniroslim@gmail.com

Abstract: Asteraceae is known as compositae which is a cosmopolitan plant group consisting of approximately 1,250 genera and 25,000 species distributed in various regions. Similar morphological characters among species pose challenges in taxonomy and phylogenetics, making the identification process difficult. These limitations of morphological identification can be overcome through a molecular approach using DNA barcoding to reduce errors in species grouping and in determining phylogenetic relationships among plant species in the Asteraceae family through multilocus DNA barcode analysis of *matK, rbcL* and *ITS*. This study aims to analyze DNA barcodes *matK, rbcL* and *ITS* in the Asteraceae family. DNA sequence exploration were obtained from *GenBank* through the NCBI website. Analysis of DNA sequence was performed using MEGA11, and phylogenetic tree reconstruction was carried out using the *Neighbor Joining* (NJ) method in MEGA11 with the *p-distance* evolutionary model and rapid bootstrap analysis conducted with 1000 replicates. The *rbcL* sequence had the lowest number of variable sites (13.6%) compared to single sequences and other combinations, while *ITS* showed the highest number of variable sites (59.3%), and the *matK+rbcL+ITS* combination produced the most informative phylogenetic grouping because it provided more consistent bootstrap support at the main branches. The multilocus approach increases the resolution in describing phylogenetic relationships among genera within the family Asteraceae.

Keywords: Asteraceae; DNA barcoding; ITS; matK; rbcL.

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman tumbuhan tertinggi di dunia yang didukung oleh kondisi geografis di wilayah tropis dengan berbagai ekosistem yang kaya. Menurut Retnowati *et al.,* (2019), Indonesia memiliki 31.750 jenis tumbuhan yang telah ditemukan dan 25.000 diantaranya merupakan tumbuhan berbunga. Salah satu famili tumbuhan dengan tingkat keanekaragaman tinggi dan tersebar luas di berbagai habitat di Indonesia adalah Asteraceae. Famili Asteraceae dikenal sebagai compositae yang terdiri dari sekitar 1.250 genus dan 25.000 spesies yang tersebar di berbagai wilayah. Karakteristik famili Asteraceae berupa bunga majemuk yang tersusun dalam kapitulum yang dikelilingi oleh daun pembalut (*involukrum*), terdiri atas bunga tabung (*disk floret*) dan bunga tepi (*ray floret*) (Rahmawati & Sulistiyowati 2021). Famili Asteraceae memiliki peran penting sebagai tanaman hias, obat, dan pangan. Banyak spesiesnya dibudidayakan secara luas, misalnya krisan (*Chrysanthemum* spp.), dahlia (Dahlia spp.), bunga kertas (*Zinnia* spp.), aster (*Aster* spp.), marigold (*Tagetes* spp.), dan bunga matahari (*Helianthus annuus*) yang bernilai ekonomi tinggi dalam industri hortikultura. Selain itu, beberapa anggota Asteraceae juga berperan sebagai sumber obat seperti *Artemisia annua* penghasil artemisinin dan *Echinacea purpurea* sebagai imunomodulator serta sebagai tanaman pangan seperti *Lactuca sativa* dan

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

Helianthus annuus (Alfarishy *et al.,* 2019).

Kemiripan morfologi antarspesies menimbulkan tantangan dalam bidang taksonomi dan filogenetik sehingga menyebabkan proses identifikasi menjadi sulit. Spesies seperti *Ageratum conyzoides* dan *Ageratum houstonianum* memiliki kemiripan morfologi yang tinggi (Nahdloh *et al.,* 2022). Spesies dari famili Asteraceae memiliki bentuk bunga majemuk, daun, dan karakter vegetatif yang sangat mirip sehingga ciri pembeda antarspesies menjadi tidak jelas (Jiao *et al.,* 2023). Identifikasi spesies sering kali terhambat oleh spesies yang sulit dibedakan secara morfologi atau minimnya data taksonomi (Akbar *et al.,* 2025).

Keterbatasan identifikasi secara morfologi tersebut dapat diatasi melalui pendekatan molekuler, salah satunya dengan teknik barkoding DNA. Barkoding DNA merupakan teknik menggunakan sekuens DNA berukuran pendek untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi suatu spesies. Penanda molekuler yang umum digunakan pada tumbuhan meliputi gen kloroplas seperti *matK* dan *rbcL* serta *Internal Transcribed Spacer* (ITS) (Kress *et al.,* 2007; Roslim *et al.,* 2023).

Kombinasi dua atau lebih barkode DNA diperlukan untuk menjamin tingkat akurasi identifikasi yang lebih tinggi (Martiansyah 2021). Penelitian Nath *et al.,* (2024) menunjukkan bahwa lokus *ITS* memiliki kemampuan diskriminasi tertinggi, dan penggabungan *matK, rbcL*, dan *ITS* mampu meningkatkan keberhasilan identifikasi sebesar 90%. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis multilokus barkode DNA *matK, rbcL* dan *ITS* pada famili Asteraceae.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Waktu pelaksanaan penelitian ini pada bulan Oktober hingga Desember tahun 2025. Pelaksanaan penelitian dilakukan secara daring (online) berbasis bioinformatika.

Bahan Penelitian

Bahan penelitian ini adalah database sekuens *matK*, *rbcL* dan *ITS* pada beberapa spesies yang berasal dari famili Asteraceae serta sekuens *outgroup* yaitu *Scaevola taccada* dan dianalisis dengan perangkat lunak Notepad, MAFFT v.7, *Bioedit* v.7.2 dan MEGA11.

Pencarian dan Pengumpulan Sekuens DNA pada Famili Asteraceae dan Spesies *Outgroup*

Sekuens DNA *matK, rbcL*, dan lokus *Internal Transcribed Spacer (ITS)* pada famili Asteraceae beserta spesies *outgroup* dikumpulkan dari GenBank melalui website NCBI. Pencarian sekuens dilakukan dengan memasukkan nama barkode DNA pada spesies Asteraceae yang diteliti. Hasil sekuens yang diperoleh kemudian dipilih dan diunduh dalam format FASTA.

Pensejajaran dengan *Multiple Sequence Alignment* (MSA) dan Pemotongan Sekuens Lokus Tunggal

Analisis *Multiple Sequence Alignment* (MSA) dilakukan dengan perangkat lunak MAFFT v.7. File FASTA dari sekuens DNA setiap barkode famili Asteraceae dan spesies *outgroup* diunggah ke MAFFT, kemudian diselaraskan secara otomatis. Hasil penyelarasan dianalisis untuk memastikan arah sekuens, di mana sekuens dengan orientasi *forward* ditandai dengan plot merah, sedangkan sekuens *reverse* ditandai dengan plot biru. Sekuens yang terbalik diperbaiki melalui proses *reverse complement* menggunakan BioEdit v.7.2, sekaligus dilakukan pemotongan bagian ujung yang mengandung gap. Hasil MSA yang telah diselaraskan disimpan untuk analisis selanjutnya.

Penggabungan Sekuens

Sekuens Penggabungan sekuens lokus tunggal menjadi sekuens multilokus dilakukan menggunakan BioEdit v.7.2. File FASTA dari setiap lokus tunggal yang telah diselaraskan dibuka, kemudian sekuens digabungkan dengan menyalin seluruh bagian sekuens antar barkode dan dipisahkan menggunakan huruf N. Hasil penggabungan disimpan dalam format FASTA untuk analisis selanjutnya.

Analisis Frekuensi Basa Nukleotida, Pasangan Nukleotida, Situs Polimorfisme, dan Keanekaragaman Nukleotida

Analisis frekuensi basa nukleotida, pasangan nukleotida, situs polimorfisme, dan keanekaragaman nukleotida dilakukan menggunakan MEGA11. File sekuens hasil MSA dari setiap barkode dibuka, kemudian

analisis frekuensi basa nukleotida dilakukan melalui menu *nucleotide composition* pada tab *statistics*. Perhitungan pasangan nukleotida dilakukan dengan memilih menu *nucleotide pair frequencies*. Analisis situs polimorfisme meliputi perhitungan jumlah dan persentase *conserved site* (C), *variable site* (V), *parsimony informative site* (Pi), dan *singleton site* (S). Selanjutnya, keanekaragaman nukleotida dianalisis melalui tab *selection* dengan memilih menu *Neutrality Tajima's Test*.

Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Sekuens FASTA pada lokus tunggal maupun multilokus dilakukan menggunakan aplikasi MEGA11 untuk menentukan model substitusi. Setelah model diperoleh, konstruksi pohon filogenetik lokus tunggal dan multilokus dilakukan menggunakan kriteria *Neighbor Joining* (NJ) menggunakan MEGA11 dengan model evolusi *p-distance*. Analisis rapid *bootstrap* dilakukan dengan 1000 replikasi.

Hasil dan Pembahasan

Eksplorasi sekuens DNA

Sekuens barkode *matK, rbcL*, dan *ITS* pada famili Asteraceae serta satu sekuens *outgroup Scaevola taccada* diperoleh melalui eksplorasi sekuens DNA menggunakan situs NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Spesies yang digunakan serta nomor aksesi pada setiap barkode DNA disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nama spesies dan nomor aksesi tumbuhan dari famili Asteraceae dan Outgroup

Genus	Spesies	Nomor Aksesi		
		matK	***rbcL***	***ITS1 & ITS2***
	Ageratum conyzoides	ON981775.1	MN204713.1	KT779100.1
Ageratum	*Ageratum houstonianum*	EU337054.1	MH049903.1	KT779102.1
	Ageratum corymbosum	OQ289628.1	OP711010.1	MN556260.1
	Helianthus annuus	AF151469.1	OQ832215.1	KY989518.1
Helianthus	*Helianthus tuberosus*	KT176589.1	MH714100.1	KX671858.1
	Helianthus debilis	MF350116.1	MF349643.1	AF047910.1
	Taraxacum officinale	FJ395377.1	KM361005.1	PP952737.1
Taraxacum	*Taraxacum mongolicum*	JN407106.1	MW409322.1	PV900311.1
	Taraxacum platycarpum	LC530259.1	LC530258.1	KF954529.1
	Tagetes erecta	AY215867.1	MF694780.1	PQ308656.1
Tagetes	*Tagetes patula*	AF151515.1	MF135452.1	ON695776.1
	Tagetes minuta	ON981987.1	ON950766.1	AF413576.1
	Matricaria chamomilla	KX783708.1	MG946848.1	OR710974.1
Matricaria	*Matricaria discoidea*	KX677159.1	MF963073.1	OR710975.1
	Matricaria occidentalis	MF963679.1	MF963290.1	MF964065.1
Artemisia	*Artemisia vulgaris*	KF648716.1	KM360653.1	MT612787.1
	Artemisia annua	JQ173387.1	JQ173393.1	KM887385.1
	Artemisia indica	MH116553.1	MN192503.1	JX051676.1
Elephantopus	*Elephantopus scaber*	JN407101.1	MH069777.1	JN715907.1
	Elephantopus mollis	JN407104.1	JN407254.1	MG779691.1
	Bidens pilosa	AY551477.1	PQ434941.1	KF731837.1
Bidens	*Bidens alba*	MF159391.1	PV221492.1	MK545673.1
	Bidens tripartita	JN896081.1	MH658668.1	MK545702.1
	Mikania micrantha	MF159393.1	OM837697.1	KY909250.1
Mikania	*Mikania laevigata*	JF826303.1	JF826313.1	KU295384.1
	Mikania scandens	MW048352.1	MH549922.1	MW018801.1
Eupatorium	*Eupatorium serotinum*	MH621609.1	KJ773500.1	PV495684.1
	Eupatorium perfoliatum	ON341285.1	EU676924.1	GU014468.1
	Eupatorium altissimum	MK520078.1	MK525822.1	PV495669.1
	Senecio vulgaris	KJ204540.1	MT885648.1	KU696073.1
Senecio	*Senecio scandens*	HM989779.1	GQ436470.1	KU696071.1
	Senecio nemorensis	MT967195.1	MT885644.1	MT881049.1
Scaevola	*Scaevola taccada*	JQ711558.1	LC694654.1	MF063854.1

Eksplorasi sekuens DNA menghasilkan kumpulan sekuens dari 11 genus dalam famili Asteraceae dengan ketersediaan pada lokus yang dianalisis. Ketersediaan sekuens pada lebih dari satu lokus memungkinkan penerapan pendekatan unilokus, bilokus, dan multilokus dalam evaluasi

kemampuan barkode DNA untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan. Sekuens hasil eksplorasi tersebut selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam analisis basa nukleotida dan rekonstruksi filogenetik untuk mengevaluasi kemampuan barkode DNA pada takson yang dianalisis. Barkode DNA diketahui mampu memberikan informasi terkait keanekaragaman tumbuhan, mempermudah penentuan batas antarspesies, serta mendukung penetapan prioritas konservasi pada berbagai kelompok tumbuhan (Nurbaiti *et al.,* 2025).

Sekuens DNA yang telah diperoleh selanjutnya melalui tahap pemotongan dan penyelarasan untuk memperoleh keseragaman posisi homolog antar sampel. Proses tersebut menghasilkan panjang sekuens alignment yang berbeda pada masing-masing barkode DNA serta kombinasi multilokus. Panjang sekuens hasil pemotongan dapat dilihat pada Tabel 2.

Variasi Panjang sekuens pada setiap barkode DNA menunjukkan variasi ukuran antar lokus yang dianalisis. Barkode *ITS* memiliki panjang sekuens terbesar dibandingkan barkode tunggal lainnya. Kombinasi dua barkode menghasilkan panjang sekuens yang merupakan gabungan dari masing-masing lokus, sedangkan kombinasi tiga penanda memberikan panjang tertinggi pada pendekatan multilokus. Penggunaan beberapa penanda secara bersamaan dapat menghasilkan rekonstruksi filogenetik yang lebih baik dibandingkan penggunaan satu penanda saja (Talavera *et al.,* 2022).

Tabel 2. Panjang sekuens barkode DNA dari famili Asteraceae

Sekuens DNA	Panjang sekuens DNA (pb)
matK	535
rbcL	494
ITS	553
matK+rbcL	1033
matK+ITS	1093
rbcL+ITS	1051
matK+rbcL+ITS	1591

Analisis Sekuens DNA

Analisis sekuens DNA dilakukan untuk mengevaluasi karakter molekuler dari masing-masing barkode yang meliputi frekuensi basa nukleotida, pasangan basa, tingkat polimorfisme, serta keanekaragaman nukleotida. Analisis komposisi basa nukleotida memberikan informasi dasar yang diperlukan dalam studi komparatif serta rekonstruksi hubungan filogenetik antar takson (Zhan *et al.,* 2024). Analisis frekuensi basa nukleotida dilakukan untuk mengetahui proporsi basa adenin (A), timin (T), guanin (G), dan sitosin (C) pada setiap barkode DNA yang dianalisis sehingga dapat menggambarkan komposisi sekuens antar lokus. Hasil perhitungan frekuensi basa nukleotida pada masing-masing barkode DNA disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Frekuensi rata-rata basa nukleotida dari kandidat barkode DNA pada famili Asteraceae

Sekuens	Frekuensi Rata-Rata Basa Nukleotida (%)					
	A	G	C	T	AT	GC
matK	29,1	15,7	18,4	36,8	65,9	34,1
rbcL	26,6	23,2	20,8	29,3	55,9	44
ITS	21,9	27,6	25,1	25,5	47,4	52,7
matk+ rbcL	27,9	19,3	19,6	33,2	61,1	38,9
matK+ ITS	25,6	21,5	21,7	31,2	56,8	43,2
rbcL+ ITS	24,2	25,4	23,0	27,4	51,6	48,4
matK+ rbcL+ ITS	25,9	22,1	21,4	30,6	56,5	43,5

Frekuensi komposisi basa nukleotida dari kandidat barkode DNA pada famili Asteraceae menunjukkan bahwa sekuens *ITS* memiliki kandungan GC lebih tinggi dibandingkan AT, sedangkan sekuens *matK* dan *rbcL* menunjukkan proporsi AT lebih besar dibandingkan GC. Basa nukleotida adenin (A) dan timin (T) mendominasi komposisi nukleotida kloroplas sehingga menghasilkan persentase kandungan AT yang tinggi (Paramita *et al.,* 2025). Temuan serupa juga dilaporkan oleh Herman (2024) pada tanaman *Kalanchoe* sp. yang menunjukkan kandungan GC relatif tinggi pada sekuens *ITS*. Variasi komposisi basa antar lokus tersebut menunjukkan adanya perbedaan karakteristik molekuler pada masing-masing penanda.

Variasi basa nukleotida pada sekuens barkode DNA famili Asteraceae ditunjukkan oleh jumlah situs konservatif, situs variatif, serta tingkat substitusi nukleotida pada setiap lokus. Informasi tersebut mencerminkan tingkat kestabilan dan variasi basa, termasuk keberadaan situs polimorfik, yang berperan dalam menentukan informasi filogenetik pada suatu barkode DNA. Hasil analisis polimorfisme dan frekuensi basa nukleotida dari kandidat barkode DNA pada famili Asteraceae menunjukkan adanya perbedaan tingkat variasi antar sekuens. Sekuens *rbcL* memiliki jumlah situs variasi terendah (13,6%) dibandingkan sekuens tunggal maupun kombinasi lainnya. Sebaliknya, *ITS* menunjukkan jumlah situs variasi tertinggi (59,3%) (Tabel 4).

Tabel 4. Polimorfisme basa dan frekuensi pasangan basa nukleotida dari kandidat barkode DNA pada famili Asteraceae

Sekuens	Polimorfisme				Frekuensi Pasangan Nukleotida		
	CS pb (%)	VS pb (%)	Pi	S	ii	si	sv
matK	406 (75,9)	129 (24,1)	79	50	505	11	12
rbcL	426 (86,4)	67 (13,6)	50	17	478	8	8
ITS	216 (39,1)	328 (59,3)	284	41	383	57	60
matK+ rbcL	832 (80,5)	196 (19)	129	67	983	18	20
matK+ ITS	622 (56,9)	457 (41,8)	363	91	888	68	72
rbcL+ ITS	642 (61,1)	395 (37,6)	334	58	861	65	68
matK+ rbcL+ ITS	1048 (65,9)	524 (32,9)	413	108	1366	76	80

Keterangan: CS: *Conserved site*, VS: *Variable site,* Pi: *Parsimony informative site,* S: *Singleton site,* ii: *identical pairs,* si: *transition pairs*, sv: *transversal pairs*

Analisis polimorfisme dan frekuensi basa nukleotida pada kandidat barkode DNA famili Asteraceae menunjukkan bahwa *rbcL* memiliki variasi genetik rendah, sedangkan *ITS* memiliki variasi yang tinggi. Rendahnya variasi pada *rbcL* menyebabkan tingkat kemiripan antarspesies tinggi sehingga kemampuannya dalam membedakan tingkat genus pada tumbuhan menjadi terbatas, meskipun penanda ini bersifat universal (Nisha *et al.,* 2024). Tingkat variasi tinggi pada *ITS* dipengaruhi oleh tekanan seleksi yang rendah dan rekombinasi pada daerah *non-coding* sehingga meningkatkan keragaman genetik (Widjaya *et al.,* 2025).

Sekuens *ITS* memiliki tingkat situs variabel dan substitusi nukleotida paling tinggi dibandingkan dua sekuens tunggal lainnya. Variasi basa nukleotida terjadi akibat adanya substitusi basa berupa transisi dan transversi (Nurbaiti *et al.,* 2025). Pada kombinasi sekuens, peningkatan jumlah sekuens diikuti oleh meningkatnya tingkat substitusi nukleotida, dengan kombinasi *matK+rbcL+ITS* menunjukkan frekuensi pasangan basa transisi dan transversi paling tinggi. Variasi nukleotida pada suatu organisme muncul akibat mutasi sebagai sumber terbentuknya variasi genetik. Mutasi pada sekuen nukleotida dapat terjadi akibat pengaruh lingkungan dan aktivitas senyawa mutagenik (Mursyidin & Makruf 2020). Dengan demikian, mutasi menjadi tahap awal pembentukan populasi dasar dan peningkatan keanekaragaman genetik pada populasi berikutnya.

Variasi genetik yang lebih mendalam dapat dilakukan melalui analisis keanekaragaman nukleotida (π), laju substitusi nukleotida (Θ), serta statistik uji Tajima's *D*. Analisis keanekaragaman nukleotida bertujuan untuk mengetahui tingkat variasi genetik pada sekuens DNA sebagai dasar dalam memahami kondisi genetik dan proses evolusi suatu populasi. Analisis keanekaragaman nukleotida pada masing-masing spesies pada famili Asteraceae dapat dilihat pada Tabel 5.

Keanekaragaman nukleotida (π) sekuens barkode DNA pada famili Asteraceae menunjukkan perbedaan tingkat variasi genetik antar sekuens. Sekuens *ITS* memiliki keanekaragaman nukleotida paling tinggi (π = 0,212), *matK* sedang (π = 0,043) dan *rbcL* paling rendah (π = 0,031) yang mencerminkan variasi genetik yang lebih besar pada *ITS.* Keanekaragaman genetik yang rendah

mencerminkan laju evolusi yang terbatas, sehingga sekuens tanaman saat ini tidak berbeda dari sekuens pada masa sebelumnya (Adimaka *et al.,* 2019). Temuan tersebut menunjukkan bahwa *ITS* memiliki kemampuan diskriminasi takson yang lebih tinggi dibandingkan *matK* dan *rbcL* sehingga lebih informatif dalam menggambarkan variasi genetik dan hubungan kekerabatan pada famili Asteraceae.

Tabel 5. Nilai keanekaragaman nukleotida sekuens barkode DNA pada famili Asteraceae

Sekuens	*Tajima's Neutrality Test*					
	m	***S***	***Ps***	***Θ***	***π***	***D***
matK	33	129	0,241	0,059	0,043	-1,029
rbcL	33	67	0,136	0,033	0,031	-0,271
ITS	33	328	0,593	0,146	0,212	1,736
matK+ rbcL	33	196	0,190	0,047	0,037	-0,077
matK+ ITS	33	457	0,418	0,103	0,129	0,954
rbcL+ ITS	33	395	0,376	0,093	0,126	1,396
matK+ rbcL+ ITS	33	524	0,329	0,081	0,098	0,797

Keterangan: *m*: jumlah sekuens sampel, *S*: jumlah situs yang bersegregasi (*segregation site*), *Ps*: *S/n* (proporsi situs segregasi), *Θ*: laju substitusi nukleotida, *π*: keanekaragaman nukleotida dan *D*: statistik uji tajima

Nilai Tajima's D menunjukkan perbedaan pola evolusi antarsekuens, dengan nilai negatif pada *matK* (D = -1,209) dan *rbcL* (D = -0,217), sedangkan nilai positif pada *ITS* (D = 1,736). Uji Tajima's D digunakan untuk mendeteksi penyimpangan dari model evolusi netral berdasarkan distribusi variasi nukleotida dalam populasi. Nilai Tajima's D negatif pada *matK* dan *rbcL* mencerminkan rendahnya tingkat polimorfisme atau keragaman genetik dalam populasi, yang mengindikasikan terjadinya penurunan ukuran populasi (*bottleneck*) sehingga menyebabkan hilangnya sebagian variasi genetik. Sebaliknya, nilai Tajima's D positif pada *ITS* menunjukkan adanya kelebihan polimorfisme yang berkaitan dengan seleksi penyeimbang atau proses evolusi netral dalam populasi yang relatif stabil (Choi *et al.,* 2026). Sejalan dengan pola tersebut, sekuens *ITS* dan kombinasinya menunjukkan variasi genetik yang lebih beragam sehingga lebih informatif dalam merepresentasikan keanekaragaman nukleotida pada famili Asteraceae.

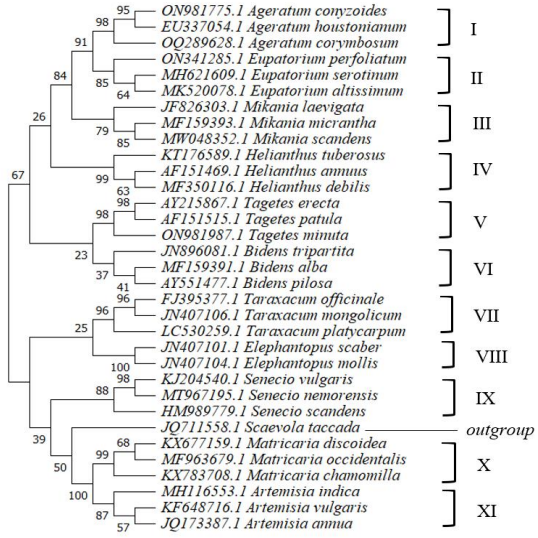
Analisis Filogenetik

Penelitian analisis multilokus barkode DNA pada famili Asteraceae dilakukan untuk memperoleh gambaran yang lebih akurat mengenai hubungan kekerabatan antargenus dan antarspesies melalui penggunaan beberapa barkode yang saling melengkapi. Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan perangkat lunak MEGA11 dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dan uji *bootstrap* sebanyak 1000 kali. Metode *Neighbor-Joining* merupakan pendekatan analisis filogenetik yang didasarkan pada perhitungan jarak evolusioner antar *operational taxonomic unit* (OTU) serta memperhitungkan perbedaan laju evolusi pada setiap percabangan (Devi *et al.,* 2021). Nilai bootstrap yang tinggi lebih mudah diinterpretasikan dan menunjukkan bahwa cabang pada pohon filogenetik merepresentasikan hubungan kekerabatan yang akurat (Lemoine & Gascual 2024). Garis pada pohon filogenetik menunjukkan jarak evolusi dan kesamaan moyang yang ditunjukkan oleh panjang cabang, di mana cabang yang lebih pendek menandakan jarak evolusi yang lebih dekat dan karakter yang lebih primitif (Oktafia & Badruzsaufari 2021).

Scaevola taccada secara konsisten terpisah pada cabang tersendiri dan tidak mengelompok dengan spesies dalam famili Asteraceae pada seluruh kombinasi sekuens yang dianalisis, yang menunjukkan fungsinya sebagai *outgroup* dalam analisis filogenetik. *Outgroup* adalah spesies yang berkerabat dengan *in-group* tetapi berada di luar kelompok tersebut dan berperan sebagai acuan dalam penentuan arah percabangan pohon filogenetik (Sahadeva & Pertiwi 2023). Kelompok organisme yang berasal dari satu nenek moyang membentuk kelompok monofiletik atau klade yang mencerminkan hubungan kekerabatan dekat serta kesamaan sifat dan pola genetik antar taksa.

Penggunaan *outgroup* bertujuan untuk menentukan arah evolusi karakter pada kelompok *in-group* sehingga karakter leluhur dan turunan dapat dibedakan (Khamaliah *et al.,* 2025). Pemilihan *outgroup* memengaruhi penentuan cabang pohon filogenetik, karena *outgroup* yang terlalu jauh secara evolusioner dapat menyebabkan ketidakstabilan penempatan cabang.

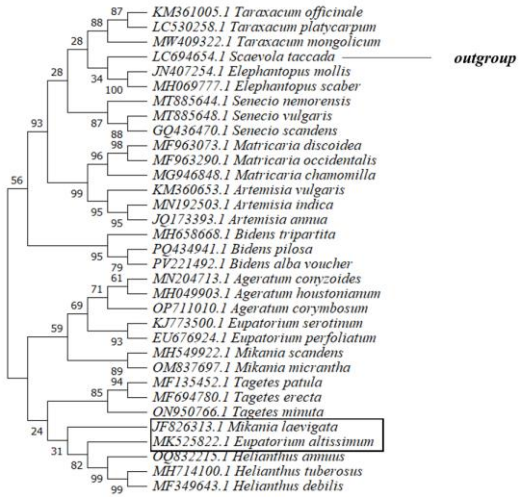
Analisis filogenetik dilakukan berdasarkan sekuens *matK, rbcL*, dan *ITS*, serta kombinasi multilokus *matK+rbcL, matK+ITS, rbcL+ITS*, dan *matK+rbcL+ITS* sebagai barkode DNA. Pohon filogenetik yang dihasilkan menunjukkan pengelompokan berdasarkan jarak genetik, di mana spesies yang berkerabat dekat cenderung berada dalam klade yang sama, sedangkan spesies dengan kekerabatan lebih jauh terpisah pada klade berbeda. Rekonstruksi pohon filogenetik pada analisis unilokus menggunakan sekuens *matK* menunjukkan bahwa sebagian besar spesies dalam famili Asteraceae mengelompok sesuai dengan genusnya masing-masing (Gambar 1). Pengelompokan tersebut menunjukkan kemampuan barkode DNA *matK* dalam merepresentasikan hubungan kekerabatan pada tingkat genus melalui terbentuknya klade yang relatif konsisten. Namun, analisis unilokus *matK* belum mampu memisahkan spesies *outgroup* secara jelas.



Gambar 1. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *matK*

Pohon filogenetik yang dihasilkan menggunakan sekuens *matK* menunjukkan keunggulan dalam pengelompokan spesies antar genus dalam famili Asteraceae secara jelas. Karakter sekuens *matK* yang relatif konservatif sehingga lebih efektif digunakan untuk identifikasi hingga tingkat genus (Putri *et al.,* 2025). Dengan demikian barkode *matK* hanya efektif digunakan untuk identifikasi pada tingkat genus pada famili Asteraceae.

Analisis unilokus menggunakan sekuens *rbcL* menghasilkan pohon filogenetik yang memperlihatkan pengelompokan sebagian spesies famili Asteraceae sesuai genusnya, namun pemisahan antarspesies berkerabat dekat masih terbatas (Gambar 2). Kondisi tersebut terlihat pada genus *Mikania* dan *Eupatorium* yang belum membentuk klade genus secara konsisten karena beberapa spesies masih terpisah dari kelompoknya. Selain itu, spesies *outgroup* belum terpisah jelas dari kelompok *in-group*

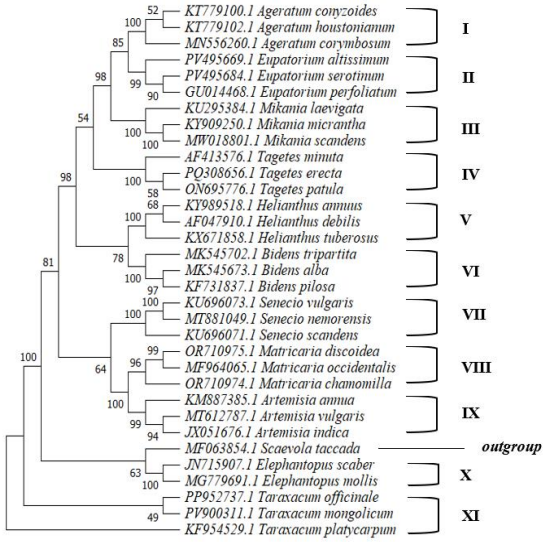


Gambar 2. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *rbcL*

Keterbatasan resolusi *rbcL* dalam merekonstruksi hubungan kekerabatan pada takson yang dianalisis berkaitan dengan karakter *rbcL* sebagai gen penyandi protein pada kloroplas yang memiliki tingkat variasi nukleotida relatif rendah. Homologi sekuens yang tinggi menyebabkan tingkat divergensi genetik terbatas sehingga kemampuan diskriminasi antarspesies menjadi rendah (Perwitasari *et al.,* 2020). Oleh karena itu, *rbcL* kurang efektif digunakan sebagai barkode tunggal dan perlu dikombinasikan dengan barkode DNA lain yang memiliki tingkat variasi

lebih tinggi untuk meningkatkan resolusi filogenetik.

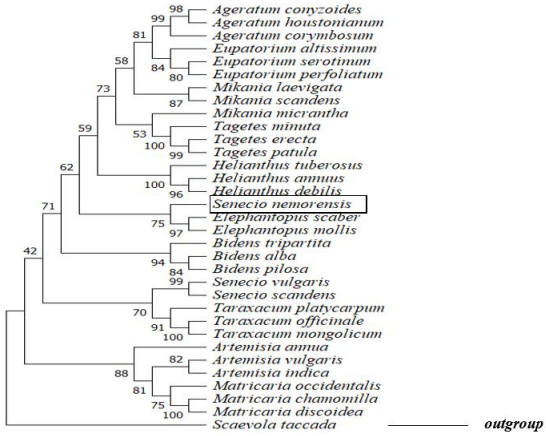
Analisis unilokus menggunakan sekuens *ITS* menghasilkan pohon filogenetik yang menunjukkan pengelompokan spesies famili Asteraceae dengan jelas (Gambar 3). Sebagian besar spesies mengelompok sesuai dengan genusnya dan membentuk klade dengan peningkatan nilai *bootstrap* pada beberapa percabangan. Meskipun demikian, barkode *ITS* belum mampu memisahkan spesies *outgroup* dari kelompok Asteraceae.



Gambar 3. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *ITS*

Struktur percabangan yang lebih jelas serta peningkatan nilai bootstrap pada beberapa klade menunjukkan kemampuan *ITS* dalam membedakan spesies yang berkerabat dekat. Kondisi ini berkaitan dengan karakter ITS sebagai lokus inti yang dapat mengalami rekombinasi sehingga menghasilkan variasi genetik yang tinggi (Su'udi 2018). Pada genus *Taraxacum*, *Taraxacum platycarpum* menempati posisi percabangan tersendiri dengan nilai *bootstrap* cukup rendah, yang menunjukkan hubungan kekerabatan internal genus tersebut belum sepenuhnya stabil. Selain itu, pemisahan *outgroup* yang belum terlihat jelas menunjukkan bahwa *ITS* masih memiliki keterbatasan apabila digunakan sebagai barkode tunggal.

Analisis bilokus menggunakan kombinasi sekuens *matK+rbcL* menghasilkan pohon filogenetik dengan pengelompokan spesies famili Asteraceae yang belum cukup optimal dan menunjukkan peningkatan nilai *bootstrap* dibandingkan analisis unilokus serta mampu memisahkan spesies *outgroup* dari kelompok *in-group* pada famili Asteraceae (Gambar 4). Pemisahan takson belum sepenuhnya terpisah, seperti pada *Senecio nemorensis* yang masih terpisah dari kelompok *S. Vulgaris* dan *S. Scandens.*



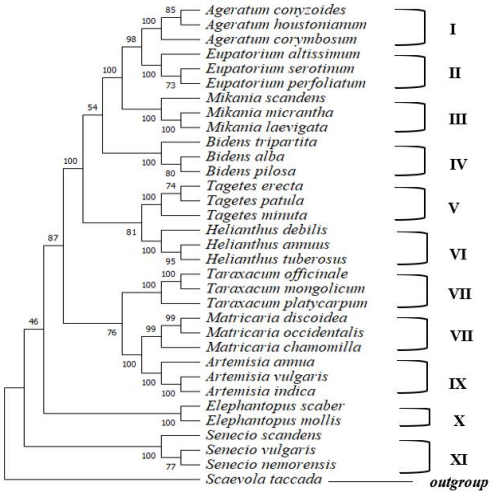
Gambar 4. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *matK+rbcL*

Struktur percabangan menunjukkan bahwa kombinasi *matK+rbcL* mampu meningkatkan nilai *bootstrap* serta kestabilan pengelompokan pada beberapa klade. Namun, pemisahan takson berkerabat dekat belum sepenuhnya konsisten. Gen *matK* dan *rbcL* merupakan penanda DNA kloroplas yang umumnya diwariskan secara maternal. DNA kloroplas memiliki tingkat rekombinasi genetik yang rendah sehingga menunjukkan homologi sekuens yang tinggi (Manurung *et al.,* 2018). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kombinasi dua penanda kloroplas dapat memperkuat sinyal filogenetik, resolusi pohon yang dihasilkan masih belum optimal tanpa dukungan barkode tambahan yang lebih variatif.

Analisis bilokus menggunakan kombinasi sekuens *matK+ITS* menghasilkan pohon filogenetik dengan pola pengelompokan spesies famili Asteraceae yang lebih jelas dan konsisten (Gambar 5). Sebagian besar spesies mengelompok sesuai dengan genusnya serta membentuk beberapa klade utama dengan dukungan bootstrap yang relatif tinggi. Selain itu, kombinasi *matK+ITS* mampu memisahkan antara spesies *outgroup* dari kelompok *in-group*

Asteraceae.

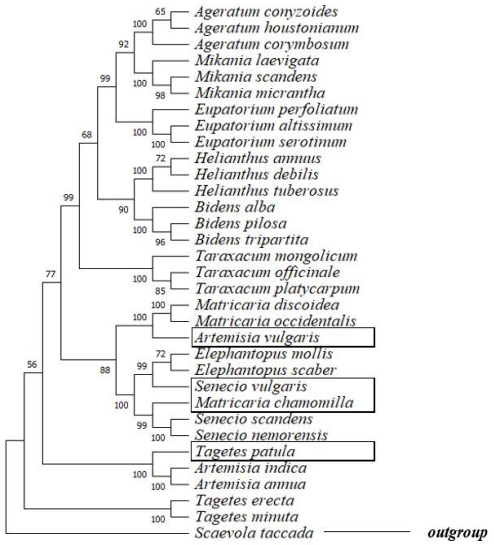
Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa kombinasi *matK+ITS* merupakan kombinasi bilokus terbaik karena mampu meningkatkan resolusi filogenetik serta kestabilan pengelompokan pada tingkat genus. Sebagian besar kelompok genus membentuk klade monofiletik dengan dukungan *bootstrap* tinggi. Terbentuknya sejumlah klade utama serta pemisahan *outgroup* yang jelas menunjukkan bahwa kombinasi barkode kloroplas dan inti memberikan informasi filogenetik yang saling melengkapi sehingga menghasilkan rekonstruksi hubungan kekerabatan yang lebih baik.



Gambar 5. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *matK+ITS*

Analisis bilokus menggunakan kombinasi sekuens *rbcL+ITS* menghasilkan pohon filogenetik dengan resolusi yang belum sepenuhnya optimal (Gambar 6). Sebagian spesies telah mengelompok sesuai dengan genusnya dan pemisahan outgroup terlihat jelas, namun beberapa takson masih belum membentuk klade genus secara konsisten sehingga hubungan kekerabatan yang dihasilkan belum sepenuhnya stabil.

Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa kombinasi *rbcL+ITS* menghasilkan resolusi pohon yang belum optimal, yang ditandai oleh belum konsistennya pengelompokan pada beberapa spesies, seperti *Artemisia vulgaris*, *Senecio vulgaris*, *Senecio nemorensis*, *Matricaria chamomilla*, *Tagetes patula*, dan *Artemisia indica* yang belum mengelompok sesuai dengan genusnya. Temuan ini menunjukkan bahwa meskipun kombinasi penanda kloroplas dan inti dapat meningkatkan informasi filogenetik, resolusi yang dihasilkan masih terbatas sehingga belum sepenuhnya mampu merekonstruksi hubungan kekerabatan seluruh takson secara stabil.



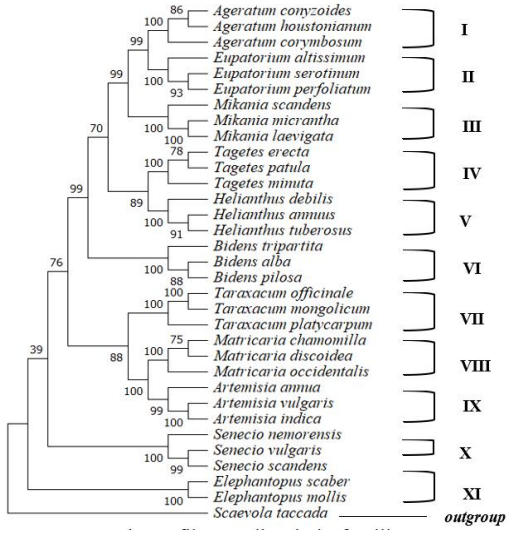
Gambar 6. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *rbcL+ITS*

Analisis multilokus menggunakan kombinasi barkode *matK+rbcL+ITS* menghasilkan struktur topologi yang optimal pada pohon filogenetik (Gambar 7). Pengelompokan spesies Asteraceae yang dihasilkan lebih konsisten pada tingkat genus serta mampu memisahkan *outgroup* dari kelompok *in-group* dengan dukungan *bootstrap* yang lebih baik dibandingkan analisis unilokus maupun bilokus.

Kombinasi barkode *matK+rbcL+ITS* menunjukkan bahwa struktur pohon filogenetik yang lebih stabil dan konsisten melalui pembentukan klade-klade monofiletik pada tingkat genus tanpa adanya spesies yang terpisah dari kelompoknya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan kombinasi beberapa penanda genetik secara bersamaan (multilokus) dapat meningkatkan akurasi identifikasi spesies.

Hasil analisis secara keseluruhan menunjukkan bahwa sekuens *matK*, *ITS* , kombinasi *matK+ITS* dan *matK+rbcL+ITS* menunjukkan bahwa spesies-spesies dalam famili Asteraceae yang dianalisis mengelompok sesuai dengan genusnya masing-masing.

Kombinasi *matK+rbcL+ITS* menghasilkan pengelompokan filogenetik yang paling informatif karena memberikan dukungan *bootstrap* yang lebih konsisten pada percabangan utama, sehingga lebih representatif dalam menggambarkan hubungan kekerabatan antargenus dalam famili Asteraceae.



Gambar 7. Pohon filogenetik dari famili Asteraceae yang dikonstruksi berdasarkan sekuens *matK+rbcL+ITS*

Barkode *matK* dan *ITS* merupakan barkode DNA tunggal yang efisien pada tingkat genus dalam famili Asteraceae karena mampu membentuk klade-klade pada masing-masing genus. Sementara itu, penggunaan kombinasi multilokus yang melibatkan *ITS* meningkatkan ketepatan identifikasi, kestabilan klade genus, serta kemampuan pemisahan *outgroup*, yang didukung oleh tingginya variabilitas genetik *ITS*.

Kesimpulan

Sekuens *matK* dan *ITS* merupakan barkode DNA tunggal yang efektif pada tingkat genus dalam famili Asteraceae, dengan tingkat variasi masing-masing sebesar 24,1% pada *matK* dan 59,3% pada *ITS*, sedangkan *rbcL* bersifat lebih konservatif dengan variasi 13,6% sehingga kurang informatif sebagai penanda tunggal. Kombinasi *matK+ITS* dan *matK+rbcL+ITS* meningkatkan jumlah situs informatif serta menghasilkan topologi pohon yang lebih stabil dan pengelompokan genus yang lebih konsisten. Kombinasi yang melibatkan *ITS* memberikan resolusi taksonomi dan ketepatan rekonstruksi filogenetik yang paling lebih baik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan penelitian ini, khususnya rekan-rekan yang telah memberikan saran serta keluarga atas dukungan dan semangat hingga penelitian ini dapat diselesaikan dan dipublikasikan.

Referensi

Adimaka, N., Rifki, M., Dewanti, R., Cahyadi, M. (2019). Keragaman genetik puyuh Jepang (*Coturnix japonica*) berdasarkan analisis sekuen DNA mitokondria gen Cytochrome-b. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 29(2): 143-151. https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2019.029.02.05

Akbar, H., Rangkuty, SM., Siregar, RJ., Sitanggang, WP. (2025). Peran DNA barcoding dalam identifikasi spesies tanaman langka dalam upaya konservasi keanekaragaman hayati. *Jurnal Saintifik* 23(2): 209-214. https://doi.org/10.58222/js.v23i2.444

Alfarishy, Agassi, Ayu, Suffan, Salamah. (2019). *Asteraceae Universitas Indonesia*. Jakarta: Ui Publishing. ISBN: 9789794568026.

Choi, H., Choi, H., Park, H., Eyun, S., Soh, HY. (2026). Genetic connectivity and regional differentiation of *Calanus sinicus* in Korean coastal wates with a focus on Yeosu Bay. *Regional Studies in Marine Science* 93: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2025.104658

Devi, SR., Herlambang, AEN., Hanifa, BF., Muchtaromah, B. (2021). Analisis hubungan kekerabatan genus *cyrtodactylus* berdasarkan gen ND2 secara in sillico di Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan* 4(1): 345-353. http://repository.uinmalang.ac.id/10585/

Herman. (2024). Karakterisasi molekuler tumbuhan sidingin (*kalanchoe* sp.) asal Riau menggunakan empat penanda

barkode DNA. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 9(2): 164-171. https://doi.org/10.24002/biota.v9i2.7313

Jiao, B., Chen, C., Wei, M., Niu, G., Zheng, J., Zhang, G., Gao, T. (2023). Phylogenomics and morphological evolution of the mega-diverse genus Artemisia (Asteraceae: Anthemideae): implications for its circumscription and infrageneric taxonomy. *Annals of Botany* 131(5): 867-883. https://doi.org/10.1093/aob/mcad051

Khamaliah, TA., Jamilah, A., Wibawa, AA., Hakim, PA., Elizabeth, W., Hidayat, T. (2025). Analisis filogenetik in silico berbasis sekuens genetik terhadap afiliasi evolusier lichen dan fungi. *Jurnal Pendidikan Tambusai* 9(3): 40332–40338. https://doi.org/10.31004/jptam.v9i3.35276

Kress, WJ., Erickson, DL. (2007). A Two-locus Global DNA Barcode for Land Plants: The coding barcodes to identify flowering plants. *Proceeding of National Academy of Sciences* 102(23): 8369-8374. 10.1371/journal.pone.0000508

Manurung, J., Prakasa, H., Tanjung, UJ., Harsono, T. (2018). Hubungan kekerabatan spesies dalam genus Zanthoxylum menggunakan sekuen gen Maturase K (matK) DNA kloroplas. Jurnal Biosains 4(2): 69-77. 10.24114/jbio.v4i2.10166

Martiansyah, I. (2021). Mini Review: Pendekatan molekuler DNA barcoding: Studi kasus identifikasi dan analisis filogenetik Syzygium (Myrtaceae). *Prosiding Seminar Nasional Biologi* 7(1): 187-195. https://doi.org/10.24252/psb.v7i1.23712

Mursyidin, DH., Makruf, MI. (2020). Keanekaragaman dan kekerabatan genetik Artocarpus berdasarkan penanda DNA kloroplas *matK* & *rbcL*: Kajian in Silico. *Floribunda* *6*(5):195-206. https://doi.org/10.32556/floribunda.v6i5.2020.322

Nahdloh, EDR., Hermawan, LA., Akmalia, HA., Adawiyah, PR. (2022). Studi kekerabatan taksonomi pada 7 spesies famili Asteraceae berdasarkan karakter morfologi. *Jurnal Sains Dasar* 11(2): 78-82. https://doi.org/10.21831/jsd.v11i2.52351

Nath, S., VanSlambrouck, JT., Yao, JW., Gullapalli, A., Razi, F., Lu, Y. (2024). DNA barcoding of terrestrial invasive plant species in Southwest Michigan. *Plant Direct* 8(6): 1-13. 10.1002/pld3.615

Nisha, L., Erlinawati, I., Wahyuningsih, S., Subagio, A. (2024). Keanekaragaman famili Araceae di Hutan Lindung Batutegi, Tanggamus, Lampung berdasarkan karakteristik morfologi dan molekuler. *Jurnal Biologi Tropis* 24(1): 154-168. 10.29303/jbt.v24i1.6350

Nurbaiti, Roslim, DI., Herman. (2025). Analisis Multilokus Barcoding DNA pada famili Cucurbitaceae. *Jurnal Biologi Tropis* 25(2): 1221-1230. 10.29303/jbt.v25i2.8702

Paramita, P., Deviona., Herman. (2025). Analysis of Genetic Diversity of Sago Population in Meranti Islands Based on Morphological Characteristics and Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and matK Marker. *Jurnal Biologi Tropis* 25(4a): 123-135. 10.29303/jbt.v25i4a.10624

Perwitasari, DAG., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., Su'udi, M. (2020). DNA barcoding Anggrek obat *Dendrobium Discolor* Lindl. Tanimbar menggunakan gen *rbcL* dan ITS. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 31(1): 8-20. 10.21082/bullittro.v31n1.2020.8-20

Putri, FJ., Herman, Roslim, DI. (2025). Multilocus analysis of matK, atpB-rbcL Intergenic Spacer, and trnL-trnF Intergenic Spacer in Pandanaceae. *Jurnal Biologi Tropis* 25(2): 2040-2052. 10.29303/jbt.v25i2.8775

Rahmawati, I. & Sulistiyowati, TI. (2021). Identifikasi jenis tumbuhan dari Famili Asteraceae di kawasan wisata Irenggolo Kediri. *Stigma* 14(1): 40-47. https://doi.org/10.36456/stigma.14.01.3614.40-47

Retnowati, A., Rugayah, Rahajoe, JS., Arifiani D. (2019). *Status Keanekaragaman Hayati Indonesia: Kekayaan Jenis Tumbuhan dan Jamur Indonesia*. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). ISBN: 978-602-496-083-4.

Roslim, DI., Herman, Adiwirman, Lestari, W. (2023). *Barkoding DNA (Jilid 1).* Bantul:

KBM Indonesia. https://penerbitkbm.com/buku/barkoding-dna-jilid-1/

Sahadeva, ML., Pertiwi, NPD. (2023). Konstruksi Pohon Filogenetik Spesies dalam Famili Orchidaceae Berdasarkan Marka Gen matK Kloroplas : Studi in Silico. *Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya* 17(3):12-27. https://doi.org/10.23887/wms.v17i3.87986

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

Talavera, G., Lukhtanov, V., Pierce, NE., Vila, R. (2022). DNA Barcodes Combined with Multilocus Data of Representative Taxa Can Generate Reliable Higher-Level Phylogenies. *Systematic Biology* 71(2) 2: 382–395. https://doi.org/10.1093/sysbio/syab038

Widjaya, A., Salamah, A., Maryenti, T., Robiansyah, I., Martiansyah, I., Hariri , MR., Sun, W. (2025). Phylogenetic and DNA barcoding study on *Dehaasia pugerensis* Koord. & Valeton, an endemic and critically endangered species from East Java, Indonesia. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 14(58). https://doi.org/10.1186/s43088-025-00641-x

Zhan, Q., Huang, Y., Xue, X., Chen, Y. (2024). Comparative chloroplast genomics and phylogenetic analysis of *Oreomecon nudicaulis* (Papaveraceae). *BMC Genomic Data* 25(49): 1-14. https://doi.org/10.1186/s12863-024-01236-8