

DOI: 10.21009/Bioma15(1).5

Research article

KAJIAN *BARCODE* ANGGREK OBAT *Dendrobium* BERDASARKAN SEKUEN GEN *MATK*, *RBCL*, DAN *ITS*Dian Al Ghifari Perwitasari¹, Vita Sindiya¹, Luluk Mukarramah², Siti Rohimah¹, dan Mukhamad Su'udi^{1,*}¹Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Jember²Program Studi Biologi, FKIP Universitas Jember

*Corresponding author: msuudi.rda@gmail.com

ABSTRAK

Peningkatan penggunaan obat tradisional dari anggrek obat seperti *Dendrobium* sebagai alternatif pengobatan terus meningkat. Namun, tidak diimbangi dengan budidaya anggrek obat tersebut sehingga masih banyak eksploitasi yang dilakukan di habitat aslinya. Konservasi, implementasi dan penerapan undang-undang internasional yang membatasi perdagangan ini masih dapat dilanggar karena spesies tersebut tidak selalu diperdagangkan secara morfologis tetapi dalam bentuk simplisia sehingga dibutuhkan identifikasi spesies berbasis sekuen DNA melalui DNA barcoding. Studi *in silico* ini memanfaatkan data di Genbank (NCBI) selanjutnya sekuen DNA dikoleksi dari beberapa gen yaitu *matK*, *rbcl*, dan *ITS*. Data dianalisis menggunakan pendekatan bioinformatik, CLUSTAL X untuk menentukan tingkat homologi antar sekuen melalui pensejajaran (*alignment*) sekuen, identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai barcode, dan pembuatan pohon filogenetik. Hasil dari analisis bioinformatik menunjukkan bahwa *alignment* dengan menggunakan lokus *matK* dan *rbcl* memiliki tingkat homologi yang tinggi, meski demikian *rbcl* dapat menunjukkan karakter spesifik dari *D. crumenatum* yang berpotensi sebagai barcode. Sedangkan pada lokus *ITS* terdapat karakter spesifik dari *D. subulatum* meskipun *ITS* memiliki tingkat variasi genetik yang lebih tinggi dengan homologi yang rendah dibandingkan gen *matK* dan *rbcl*. Lokus *matK* dari semua spesies memiliki tingkat homologi yang tinggi, sehingga tidak didapatkan sekuen yang berpotensi sebagai barcode.

Kata kunci: *Dendrobium*, filogenetik, gen *matK*, *rbcl*, dan *ITS***PENDAHULUAN**

Dendrobium sebagai genus terbesar ke dua pada famili Orchidaceae memiliki lebih dari 1000 spesies. Menurut data dari WCSP (2018) diketahui bahwa jumlah spesies *Dendrobium* terdiri dari 2037 spesies. *Dendrobium* terdistribusi di berbagai wilayah geografis mulai dari daerah subtropis sampai dengan daerah tropis, dengan keragaman terbesar di Asia Tenggara (Soon Teoh, 2016). *Dendrobium* menjadi salah satu anggrek yang paling populer karena memiliki nilai estetika dan nilai komersial yang tinggi (Silva *et al.*, 2015). Peningkatan tersebut dapat menjadi salah satu penyebab semakin terancamnya keberadaan *Dendrobium* di alam. Selain itu, *Dendrobium* memiliki manfaat penting dalam bidang medis karena sifat terapeutiknya. Tercatat 483 jenis anggrek memiliki kandungan senyawa metabolit dan digunakan sebagai salah satu sumber pengobatan secara tradisional oleh masyarakat di Asia (Soon Teoh, 2016).

Peningkatan penggunaan obat tradisional pada negara maju sebagai alternatif pengobatan di samping obat modern juga terus meningkat. Meskipun penggunaan obat tradisional telah dikomersialkan selama dekade terakhir ini, sebagian besar tanaman obat masih dipanen dari alam. Beberapa spesies telah dibudidayakan tetapi hanya sebagian kecil dari total jumlah spesies yang digunakan dalam pengobatan herbal (Barman D dan Devadas, 2013; Veldman *et al.*, 2014).

Semakin banyak dilaporkan bahwa spesies menjadi berkurang berlimpah secara lokal dan lebih sulit untuk diperoleh di alam liar. Tindakan konservasi telah diambil melalui konservasi *in situ* dan *ex situ*, penelitian dan pendidikan dan juga melalui undang-undang nasional dan internasional. Konvensi internasional, seperti Konvensi tentang Keanekaragaman Biologi (CBD) dan Konvensi Internasional Perdagangan Spesies Terancam Punah (CITES), telah ditetapkan untuk merangsang konservasi dengan mengatur perdagangan spesies yang terancam. Namun, implementasi dan pemantauan undang-undang internasional ini kadang-kadang masih dapat dilanggar karena spesies tersebut tidak selalu diperdagangkan secara morfologis. Identifikasi lebih rumit ketika tanaman obat bisa diperdagangkan dalam bentuk kering, diparut atau bubuk atau dicampur dengan spesies lainnya dalam pil, tonik atau bentuk olahan lainnya yang bisa membuatnya sangat sulit untuk menentukan spesies yang diperdagangkan sehingga hanya mengandalkan informasi pada label, karena tidak mungkin untuk melacak spesies secara morfologis (Veldman *et al.*, 2014).

Identifikasi spesies berbasis molekuler merupakan teknik baru dengan menggunakan sekuen DNA dari fragmen genom yang dianggap cepat, akurat, dan konsisten, sehingga penting dalam penelitian biologi konservasi dan keanekaragaman spesies. Identifikasi dengan sekuen DNA dilakukan menggunakan penanda molekuler. Salah satu penanda molekuler yang saat ini digunakan dalam mengungkapkan taksonomi yaitu urutan sekuen pendek DNA yang dapat menunjukkan variasi genetik dalam suatu spesies. Gen tertentu dalam DNA *barcoding* dapat digunakan sebagai marka dalam pembagian genetik spesies dan rekonstruksi filogenetik (Chase *et al.*, 2003).

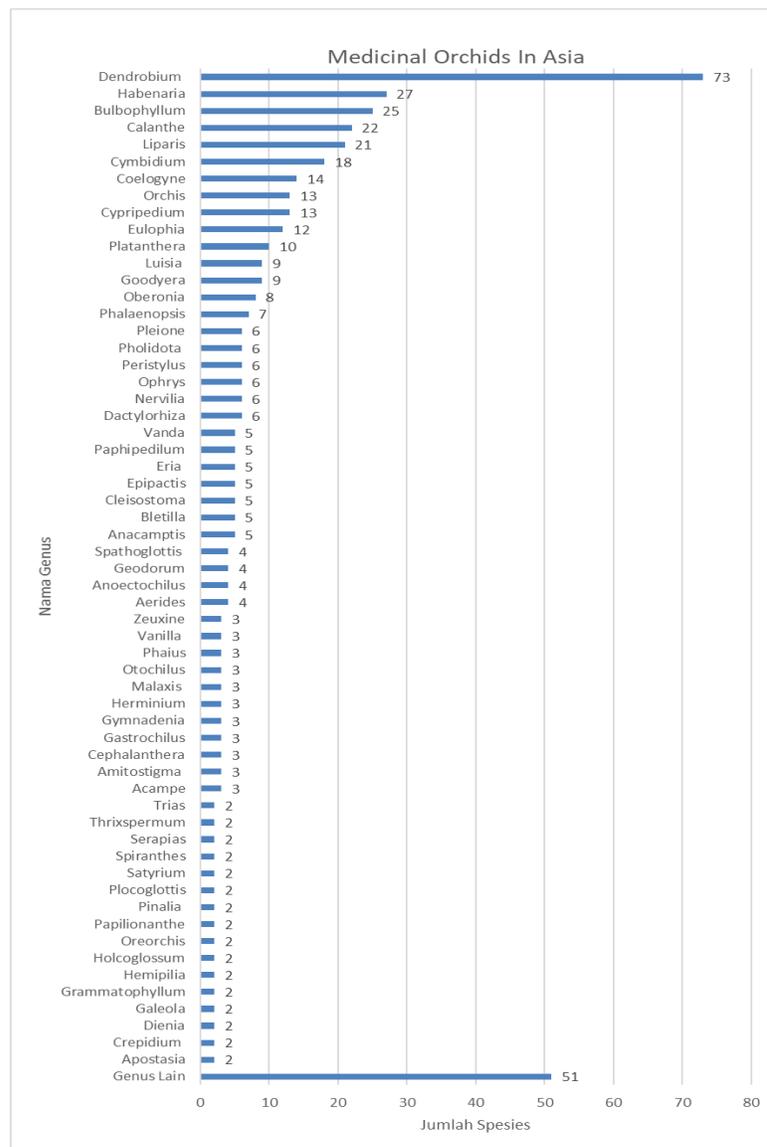
Proses identifikasi spesies pada anggrek ini diawali dengan mengisolasi DNA genom dan memperbanyak melalui PCR (Feng *et al.*, 2015). Primer yang disarankan untuk DNA *barcoding* anggrek antara lain *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase* subunit besar (*rbcL*) dengan panjang ~1428 bp (Patwardhan *et al.*, 2014), dan gen *maturase-K* (*matK*) dengan panjang 1500 bp (Hilu dan Hongping, 1997). Primer pendukung *Internal Transcribed Spancer* (*ITS*) juga digunakan sebagai penanda filogenetik yang kuat di tingkat spesies yang menunjukkan tingkat perbedaan interspesifik dengan panjang 1500 pasang basa (bp) yang berlokasi di intron *trnK* (Hollingsworth *et al.*, 2011). Kekuatan diskriminatif yang lebih besar *ITS* atas daerah plastid pada tingkat taksonomi rendah (Li *et al.*, 2014). Kajian ini bertujuan untuk mengidentifikasi sekuen pendek yang berpotensi sebagai *barcode* spesifik dan menganalisis hubungan filogenetik spesies anggrek obat anggota genus *Dendrobium* menggunakan sekuen *matK*, *rbcL*, dan *ITS*.

METODE

Sekuen DNA *Dendrobium* dikoleksi dari *database* yang tersedia di Genbank (NCBI) dengan cara menulis nama spesies dan gen yang dimaksud (*matK*, *rbcL*, dan *ITS*). Selanjutnya data yang diperoleh digunakan untuk analisis bioinformatika yang meliputi pensejajaran sekuen (*alignment*), menentukan tingkat homologi antar sekuen, identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai *barcode*, dan pembuatan pohon filogenetik. Pensejajaran sekuen dilakukan dengan menggunakan CLUSTAL X, sedangkan pohon filogenetik dikonstruksi dengan menggunakan MEGA 7.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagian besar spesies *Dendrobium* hidup secara epifit di hutan primer, beberapa litofit; dan sisanya hidup terestrial. Hal tersebut mendasari melimpahnya spesies ini di kawasan Asia Tenggara. *Dendrobium* spp yang termasuk ke dalam genus anggrek obat yang memiliki jumlah paling banyak dibandingkan genus lainnya. Sebanyak 73 spesies teridentifikasi memiliki manfaat terapeutik dan 19 spesies diantaranya tersebar di Indonesia (Gambar 1). Spesies *Dendrobium* sp. diketahui dapat menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder yang dimanfaatkan untuk terapeutik seperti phenanthren, bibenzyl, fluorenone, sesquiterpene, dan alkaloid (Soon Teoh, 2016). Spesies ini telah digunakan sebagai obat tradisional baik sebagai tonik, memelihara kesehatan perut, paru-paru, mengurangi demam. Sampai dengan sebagai anti-kanker akibat senyawa metabolit moscatilin yang dikandungnya (Wahyudiningsih *et al.*, 2017).



Gambar 1. Grafik anggrek obat di Asia (Soon Teoh, 2016).

Alasan untuk tetap mengandalkan obat tradisional dapat ditemukan pada fakta bahwa penggunaan tanaman obat telah menjadi bagian budaya dan agama untuk banyak generasi, tetapi juga karena alasan keamanan, harga, dan ketersediaan obat-obatan modern (Veldman *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil penelusuran senyawa metabolit yang dikandung anggrek obat *Dendrobium* sebagian besar senyawa aktif yang dikandung dalam tanaman ini masih belum diidentifikasi meskipun telah dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional (Tabel 1).

Tabel 1. Daftar Anggrek Obat Genus *Dendrobium* di Indonesia

| No | Nama spesies | Nama lokal | Sifat terapeutik | Senyawa aktif | Referensi |
|----|----------------------------------|-----------------------------------|--|---|--|
| 1 | <i>Dendrobium acinaciforme</i> | | sebagai tonik selama periode penyembuhan penyakit untuk menghilangkan demam, kehausan, kelesuan dan malaise dalam pengobatan tradisional China | Bibenzyls | Chen <i>et al.</i> , 2012 |
| 2 | <i>Dendrobium appendiculatum</i> | | mengobati batuk, asma, dan tuberkulosis pada pengobatan tradisional China | | Wu XR, 1994 |
| 3 | <i>Dendrobium blumei</i> | | Gangguan kulit dan meredakan rasa gatal | | Burkhill IH dan Haniff M, 1930 |
| 4 | <i>Dendrobium crumenatum</i> | Anggerik Merpati; Anggerik Bawang | analgesik, anti-inflamasi, antibakteri, mengobati bisul dan jerawat, juga digunakan untuk mengobati gangguan sistem saraf dan debilit saraf | senyawa bioaktif seperti saponin, terpenoid, alkaloid, gula reduksi dan flavonoid | Kumari <i>et al.</i> , 2012; Sandrasagaran <i>et al.</i> , 2014 |
| 5 | <i>Dendrobium cumulatum</i> | | Batang untuk antiasthmatic | Bibenzyl seperti cumulatin dan Tristin | Majumder dan Pal., 1993; Chuakul, 2002; Arora <i>et al.</i> , 2017 |

| | | | | | |
|----|---------------------------------|--------------------------------|--|---|---|
| 6 | <i>Dendrobium discolor</i> | Anggrek emas; Anggrek keriting | Batang yang dikeringkan digunakan untuk mengobati kulit gatal dan luka | | Chakrabarti, 2008 |
| 7 | <i>Dendrobium eriiflorum</i> | | Pseudobulb bubuk kering digunakan sebagai tonik, dan pasta digunakan untuk mengobati patah tulang dan dislokasi di Nepal. | | Subedi <i>et al.</i> , 2011 |
| 8 | <i>Dendrobium heterocarpum</i> | | Pasta dari batang untuk mengobati patah tulang dan dislokasi | Flavonoid, gula reduksi, cyanogenic, glikosida, dan bibenzyls | Maridass <i>et al.</i> , 2008; Subedi <i>et al.</i> , 2011; Chen <i>et al.</i> , 2012 |
| 9 | <i>Dendrobium hymenanthum</i> | | Untuk pengobatan basal (dropsy) | | Soon Teoh, 2016 |
| 10 | <i>Dendrobium indivisum</i> | | Seluruh bagiannya untuk mengobati sakit kepala | | Chuakul, 2002 |
| 11 | <i>Dendrobium leonis</i> | | Seluruh bagiannya untuk mengobati sakit kepala | | Chuakul, 2002 |
| 12 | <i>Dendrobium linearifolium</i> | | Mengobati sakit telinga di daerah Bali | | Astuti <i>et al.</i> , 2002 |
| 13 | <i>Dendrobium macraei</i> | | Untuk tonik, asma menyembuhkan alergi kulit dan obat luar eksema, mengobati gigitan ular, dan seluruh tanaman adalah afrodisiak, astringen (perangsang nafsu berahi) dan ekspektoran. Kuratif untuk tuberculosis | A dan β - asam jibantik, alkaloid (jebantin) | Singh dan Sanjiv., 2009; Kumari <i>et al.</i> , 2012; Arora <i>et al.</i> , 2017 |

| | | | | |
|----|--------------------------------|------------------|---|---|
| 14 | <i>Dendrobium pachyphyllum</i> | Anggrek kelembai | Untuk pengobatan basal dropsy | Burkhill dan Haniff, 1930 |
| 15 | <i>Dendrobium planibulbe</i> | | Mengobati luka dan luka akibat infeksi di semenanjung Malaysia | Burkhill dan Haniff, 1930 |
| 16 | <i>Dendrobium plicatile</i> | | Anti koagulasi, antoksidant, dan menghambat produksi faktor-alfa tumor nekrosis oleh makrofag tikus | Tezuka <i>et al.</i> , 1993; Yamaki dan Chie, 1996; Honda dan Masae, 2000; Kovacs <i>et al.</i> , 2007; Chen <i>et al.</i> , 2014; Arora <i>et al.</i> , 2017 |

| | | | | |
|----|------------------------------|----------------------|--|--|
| | | | | dihydrophenanthrene, 2,4-dimethoxy-3,7-dihydroxyphenanthrene, 3,4-dimethoxy-2,7-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene dan ephemeranthoquinone. 2,2'-dimethoxy-4,4',7,7'-tetrahydroxy-9,9'.10.10'-tetrahydro-1,1'-biphenanthrene |
| 17 | <i>Dendrobium purpureum</i> | Anggrek dendro Sumba | Sebagai bahan pencerah kulit di Sulawesi | Soon Teoh, 2016 |
| 18 | <i>Dendrobium subulatum</i> | | Untuk mengobati sakit kepala | Burkhill and Haniff, 1930 |
| 19 | <i>Dendrobium umbellatum</i> | | Mengobati sakit perut di Sabah, Malaysia | Soon Teoh, 2016 |

Penelusuran data pada NCBI memuat banyak informasi organisme tertentu, meliputi sekuen DNA beserta panjang nukleotidanya, nomor aksesori untuk membedakan publikasi setiap organisme, dan jenis marka yang digunakan dalam analisisnya. Penelusuran data ini memudahkan peneliti dalam pengambilan sekuen DNA dari spesies yang akan di uji. Berdasarkan hasil penelusuran, dari 19 anggota genus anggrek obat *Dendrobium* yang ada di Indonesia terdapat 12 spesies yang sekuennya telah tersedia di NCBI. Data tersebut didapatkan dari isolasi gen *matK*, *rbcL*, dan *ITS* (Tabel 2).

Tabel 2. Aksesori anggrek berdasarkan lokus gen *matK*, *rbcL*, dan *ITS* dari NCBI

| Nama Spesies | <i>matK</i> | | Asal | <i>rbcL</i> | | Asal | <i>ITS</i> | | Asal |
|--------------------------------|-------------|-------------------|------|-------------|------------------|------|------------|------------------|------|
| | Aksesori | Length (bp) | | Aksesori | Length (bp) | | Aksesori | Length (bp) | |
| <i>Dendrobium acinaciforme</i> | AB847679 | 1561 ^P | JP | FJ216578 | 703 ^P | CN | KJ210408 | 707 ^P | CN |

| | | | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|-------------------|----|----------|-------------------|----|----------|------------------|----|
| <i>Dendrobium crumenatum</i> | AB847734 | 1561 ^P | JP | DQ449472 | 613 ^P | TW | AB972336 | 889 ^F | TH |
| <i>Dendrobium cumulatum</i> | AB847737 | 1564 ^P | JP | KJ944595 | 669 ^P | TH | AB972356 | 892 ^F | TH |
| <i>Dendrobium eriiflorum</i> | AB847751 | 1561 ^P | JP | - | - | - | - | - | - |
| <i>Dendrobium heterocarpum</i> | AB847779 | 1538 ^P | JP | KF177614 | 1265 ^P | CN | JN388593 | 663 ^F | CN |
| <i>Dendrobium hymenanthum</i> | KC682487 | 708 ^P | MY | KC660978 | 484 ^P | MY | KC507768 | 447 ^P | MY |
| <i>Dendrobium indivisum</i> | - | - | - | - | - | - | AY239972 | 667 ^F | AU |
| <i>Dendrobium leonis</i> | AB847796 | 1561 ^P | JP | KC559780 | 489 ^P | MY | AB593597 | 899 ^P | JP |
| <i>Dendrobium macraei</i> | JN004417 | 780 ^P | IN | JN005432 | 604 ^P | IN | - | - | - |
| <i>Dendrobium pachyphyllum</i> | AB847826 | 1561 ^P | JP | - | - | - | AB593624 | 900 ^P | JP |
| <i>Dendrobium plicatile</i> | KY966863 | 1147 ^P | CN | - | - | - | KY966573 | 642 ^P | CN |
| <i>Dendrobium subulatum</i> | KC682480 | 708 ^P | MY | KC559781 | 495 ^P | MY | KC507766 | 385 ^P | MY |

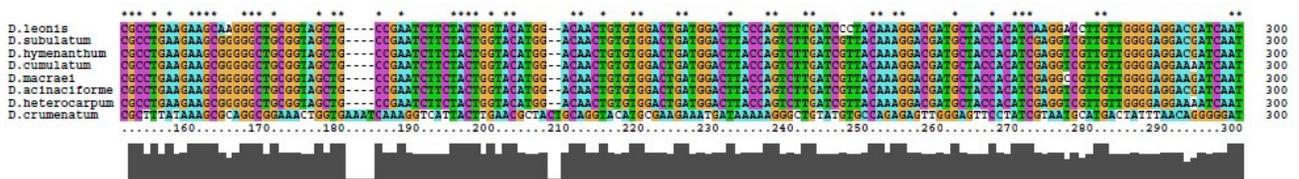
Keterangan: AU : Australia TW : Taiwan
 CN : Cina TH : Thailand
 IN : India F : Full
 JP : Jepang P : Parsial
 MY : Malaysia

Hasil menunjukkan masih terdapat beberapa data yang belum diidentifikasi dari isolasi gen *rbcL* dan *ITS*. Meskipun demikian, hanya pada lokus *ITS* yang memiliki beberapa sekuen lengkap seperti pada *Dendrobium crumenatum*. Sehingga dapat dijadikan acuan untuk pemotongan DNA (*trimming*) yang akan di sejajarkan (*alignment*) dan menghitung urutan nukleotida yang unik pada spesies lainnya. Tahapan tersebut dilakukan untuk analisis filogenetik molekuler spesies anggrek obat *Dendrobium*

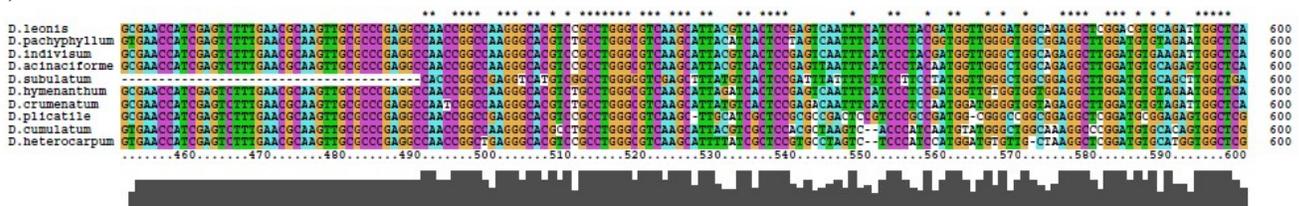
(Gambar 3). Sebagian besar anggrek obat pada tabel di atas berasal dari Kawasan Asia tepatnya Jepang Spesies lainnya berasal dari Australia, China, India, Malaysia, Taiwan, dan Thailand. Berdasarkan hasil tersebut belum ada penelitian dari Indonesia, sehingga analisis DNA *barcoding* ini dapat mengawali penelitian terhadap spesies anggota anggrek obat *Dendrobium* yang ada di Indonesia.

Filogeni molekuler memuat hubungan antar organisme atau gen dipelajari dengan membandingkan homolog DNA atau protein urutan. Ketidaksamaan antara urutan menunjukkan genetik divergensi sebagai hasil evolusi molekuler selama perjalanan waktu (Patwardhan *et al.*, 2014). Filogenetik molekuler diperoleh melalui proses pensejajaran menggunakan pendekatan bioinformatika. Tujuan dari proses pensejajaran adalah mencocokkan karakter yang homolog, dan menganalisis adanya *gap* (celah) pada sekuen yang mirip pada spesies yang diuji. Adanya *Gap* atau celah menunjukkan adanya insersi, delesi maupun penyusunan ulang materi genetik dari satu atau lebih karakter sekuen selama evolusi. Hasil *alignment* didapatkan dari proses pensejajaran sekuen *Dendrobium* dengan menggunakan CLUSTAL X (Gambar 2).

a)

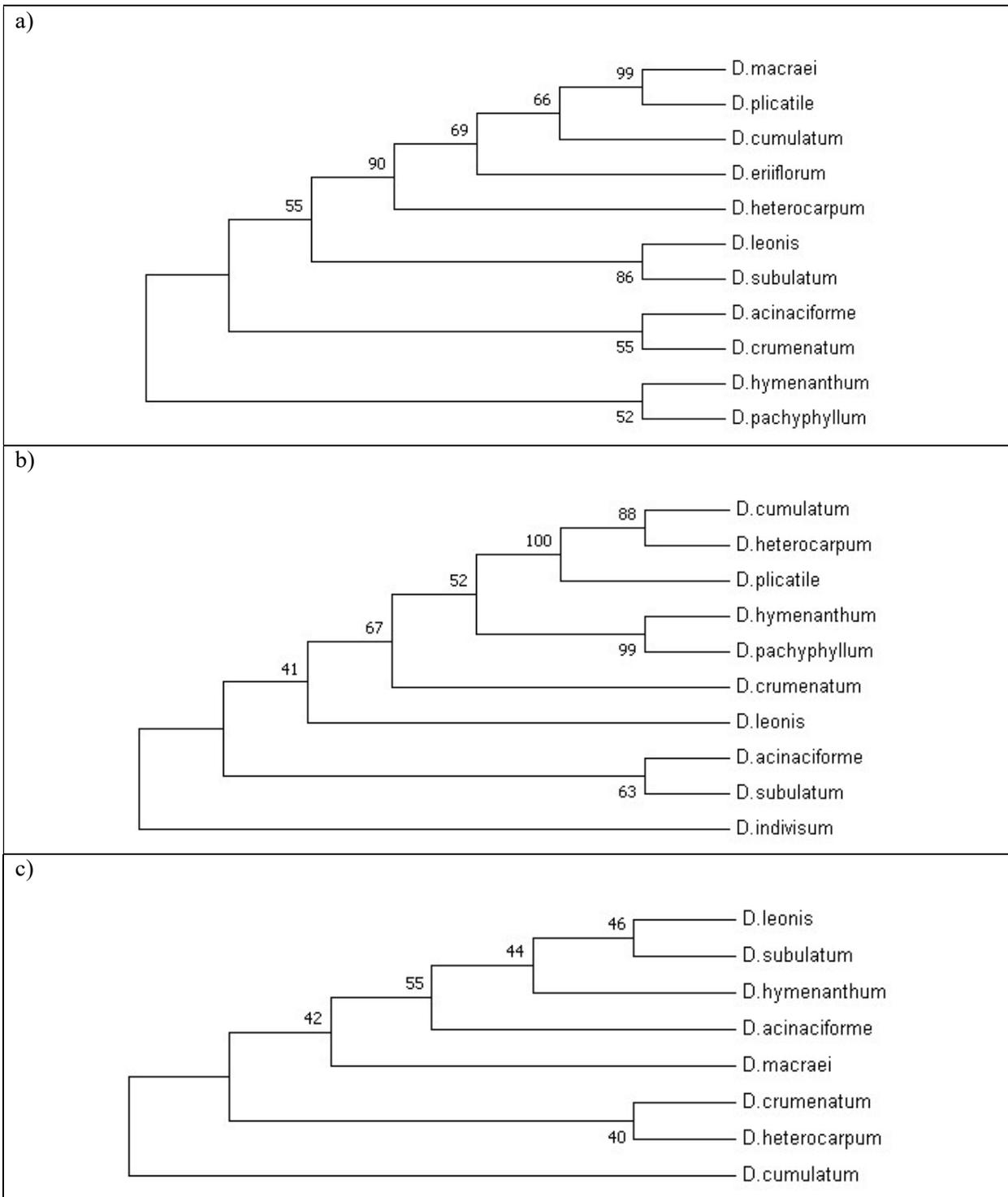


b)



Gambar 2. (a) Proses pensejajaran menggunakan *rbcL* (b) Proses pensejajaran menggunakan *ITS*. Tanda (*) menunjukkan tingkat homologi, *gap* menunjukkan insersi dan delesi

Polimorfisme yang unik pada spesies tertentu dapat dijadikan sebagai identitas genotipe atau sidik jari DNA suatu spesies yang dapat dideteksi melalui pita spesifik pada primer yang digunakan. Berdasarkan pensejajaran menggunakan lokus *rbcL*, sekuen dari *Dendrobium crumenatum* juga berpotensi sebagai barcode. Hal ini dikarenakan sebagian besar sekuen pada spesies ini berbeda dengan sekuen spesies yang lain. Sedangkan berdasarkan hasil pensejajaran menggunakan *matK*, tidak ada sekuen dari spesies-spesies tersebut yang berpotensi sebagai *barcode*. Hal tersebut dikarenakan tingkat homologi dari spesies-spesies pada lokus *matK* tersebut cukup tinggi. DNA kloroplas memiliki tingkat rekombinasi genetik yang rendah dibandingkan dengan DNA nukleus sehingga sesuai dengan hasil *alignment*, *matK* dan *rbcL* memiliki tingkat homologi yang tinggi. Sementara berdasarkan hasil pensejajaran lokus *ITS*, sekuen spesies *D. subulatum* dapat berpotensi sebagai barcode. Pada urutan 430-490 pada sekuen *D. subulatum*, terdapat delesi yang tidak dimiliki oleh spesies *Dendrobium* lainnya (Gambar 2b).



Gambar 3. (a) Pohon filogenetik menggunakan *rbcL* (b) Pohon filogenetik menggunakan *matK* (c) Pohon filogenetik menggunakan *ITS*.

Pohon filogenetik dapat menggambarkan hubungan kekerabatan antara spesies dengan moyang terakhirnya yang paling dekat. Locus *rbcL* membentuk *clade* yang lemah (BP<50) dibandingkan locus lainnya dengan BP> 50 (Gambar 3). Hubungan filogenetik berdasarkan data plastid DNA (*matK* dan *rbcL*) memiliki resolusi yang lebih baik dari *ITS*. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik *Dendrobium* dengan locus *rbcL* menggunakan metode *Neighbour-joining tree* MEGA7 menunjukkan bahwa *D. leonis* memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *D. subulatum* karena membentuk satu percabangan. Pola pengklasteran yang didapat menunjukkan bahwa anggrek-anggrek tersebut dibagi berdasarkan *section*nya yang menandakan kedekatan hubungan kekerabatan karena beberapa karakter yang menunjukkan kemiripan yang dimiliki bersama (Gambar 3a). Pohon filogenetik yang disusun menggunakan locus *rbcL* juga menunjukkan bahwa *D. cumulatum* tidak memiliki nenek moyang yang sama dengan spesies lainnya. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dari locus *matK* menunjukkan bahwa spesies-spesies tersebut terbagi menjadi dua kelompok utama dengan dua nenek moyang yang berbeda. Similaritas karakter antara spesies *Dendrobium macraei* dan *Dendrobium plicatile* saat menggunakan locus *matK* sangat tinggi yaitu 99% (Gambar 3b). Sedangkan hasil pohon filogenetik yang disusun menggunakan locus *ITS* menunjukkan bahwa *D. indivisum* tidak memiliki nenek moyang yang sama dengan spesies lainnya (Gambar 3b). Walaupun keseluruhan spesies membentuk beberapa kelompok yang berbeda. Namun, untuk setiap grup lebih banyak diferensiasi dan subgrup yang terbentuk menunjukkan bahwa terdapat keragaman genetik yang terjadi di dalam spesies (Najihah *et al.*, 2017) dan kekerabatan antar spesies masih sangat dekat. Hal ini dikarenakan di dalam pohon filogenetik tersebut hanya membentuk subgrup.

SIMPULAN

Lokus *matK* dari semua spesies memiliki tingkat homologi yang tinggi, sehingga tidak didapatkan sekuen yang berpotensi sebagai *barcode*. Meskipun locus *rbcL* memiliki tingkat homologi yang tinggi, namun terdapat karakter spesifik dari *D. crumenatum* yang berpotensi sebagai *barcode* sedangkan pada locus *ITS* terdapat karakter spesifik dari *D. subulatum* meskipun *ITS* memiliki tingkat variasi genetik yang lebih tinggi dengan homologi yang rendah dibandingkan gen *matK* dan *rbcL*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arora, M., A. Mahajan, dan J. K. Sembi. 2017. A Review on Phytochemical and Pharmacological Potential of Family Orchidaceae. *Int. Res. J. Pharm.* 8(10): 9-24.
- Astuti, I. P., S. Hidayat, dan I. B. K. Arinasa. 2000. *Traditional plant usage in four villages of Baliaga. Botanic Gardens of Indonesia*: Jakarta.
- Burkhill, I. H., dan M. Haniff. 1930. Malay village medicine. *Gardens Bull, Straits Settlements* 6:165–321.
- Chakrabarti, S. 2008. Medicinal Importance of Orchids. *National Workshop on Grower - Industry Linkage for Promotion of Medicinal and Aromatic Plants Cultivation*. 1(1): 95-101.
- Chase, M. W., K.M. Cameron, R. L. Barrett, dan J. V. Freudenstain. 2015. DNA Data and Orchidaceae Systematics: A New Phylogenetic Classification. *J. Orchid Conservation*, 1: 69–89.
- Chen, X., F. F. Wang, Y. Q. Wang, X. L. Li, A. R. Wang, C. L. Wang, dan S. X. Guo. 2012. Discrimination of the rare medicinal plant *Dendrobium officinale* based on naringenin, bibenzyl, and polysaccharides. *Sci China Life Sci.* 55(12): 1092-1099.

- Chen, J. L., W. J. Zhong, G. H. Tang, J. Li, Z. M. Zhao, D. P. Yang, dan L. Jiang. 2014. Norditerpenoids from *Flickingeria fimbriata* and their inhibitory activities on nitric oxide and tumour necrosis factor- α production in mouse macrophages. *Molecules*. 19(1) :5863–5875.
- Chuakul, W. 2002. Ethnomedical Uses of Thai Orchidaceous Plants. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Science*. 29 (3-4): 41-45.
- Hillis, D. M., C. Moritz, dan B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematic, 2nd Ed.* Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Hollingsworth, P. M., S. W. Graham, dan D. P. Little. 2011. Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE*. 6(5): e19254.
- Honda, C. dan Y. Masae. 2000. Phenanthrenes from *Dendrobium plicatile*. *Phytochemistry*. 53(1): 987-990.
- Kovacs, A., A. Vasas, dan J. Hohmann. 2007. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry*. 69(1): 1084–1110.
- Kumari, H., R. Pushpan, dan K. Nishteswar. 2012. MultiFaceted Actions of Orchids in Ethno-Medicine-An Appraisal. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 3(4): 996-1002.
- Li, X., Y. Yang, R. J. Henry, M. Rossetto, Y. Wang, dan S. Chen. 2014. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biol. Rev.* 1-10.
- Majumder P. L., dan S. Pal. 1993. Cumulatin and tristin, two bibenzyl derivatives from the orchids *Dendrobium cumulatum* and *Bulbophyllum triste*. *Phytochemistry*. 32(1): 1561-1565.
- Maridass, M., M. I. Z. Hussain. dan G. Raju. 2008. Phytochemical Survey of Orchids in the Tirunelveli Hills of South India. *Ethnobotanical Leaflets*. 12(1): 705-12.
- Najihah, A., N. A. Izzati, S. Y. C. Yong, dan M. N. N. M. Izham. 2017. Characterization of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* based on Species-Specific Gene and Microsatellites Analysis. *Sains Malaysiana*. 46(12): 2425–2432.
- Patwardhan, A., S. Ray, dan A. Roy. 2014. Molecular Markers in Phylogenetic Studies-A Review. *J Phylogen Evolution Biol*. 2(2): 1-9/
- Sandrasagar, U. M., S. Subramaniam, dan V. Murugaiyah. 2014. New Perspective of *Dendrobium crumenatum* Orchid for Antimicrobial Activity Against Selected Pathogenic Bacteria. *Pak. J. Bot.* 46(2): 719-724.
- Silva, J. A. T. D., X. Jin, J. Dobránszki, J. Lu, H. Wang, G. Zotz, J. C. Cardoso, dan S. Zen. 2015. Advances in *Dendrobium* molecular research: applications in genetic variation, identification and breeding, Molecular Phylogenetics and Evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 1: 1-57.
- Singh, A., dan D. Sanjiv. 2009. Medicinal Orchids - An Overview. *Ethnobotanical Leaflets*. 13: 399-412.
- Subedi, A., Kunwar, B., Vermeulen, J. J., Choi, Y., Tao, Y., van Andel, T. R., Chaudhary R. P., dan Gravendeel, B. 2011. Medicinal use and trade of wild orchids in Nepal. dalam Subedi A (ed) New species, pollinator interactions and pharmaceutical potential of Himalayan orchids. PhD Thesis, Leiden University, Leiden: 83–110.
- Soon Teoh, E. 2016. *Medicinal Orchids of Asia*. Singapura: Elsevier.

- Tezuka, Y., Y. Yoshida, T. Kikuchi, dan G. J. Xu. 1993. Constituents of *Ephemerantha fimbriata*. Isolation and structure elucidation of two new phenanthenes, fimbriol A and fimbriol B, and a new dihydrophenanthrene, ephemeranthol-C. *Chem Pharm Bull.* 41:1346–1349.
- Veldman, S., J. Otieno, B. Gravendeel, T. V. Andel, dan H. D. Boer. 2014. Conservation of Endangered Wild Harvested Medicinal Plants: Use of DNA Barcoding. *Novel Plant Bioresources: Applications in Food, Medicine and Cosmetics.* 1(1): 81-88.
- Wahyudiningsih, T. S., Y. A. Nion, dan Pahawang. 2017. Pemanfaatan Anggrek Spesies Kalimantan Tengah Berbasis Kearifan Lokal Yang Berpotensi Sebagai Bahan Obat Herbal. *Jurnal Biodjati.* 2 (2): 149-158.
- Wu, X. R. 1994. *A Concise Edition of Medicinal Plants in China.* Guangdong, Chinese: Guangdong Higher Education Publication House.
- WCSP. 2018. World checklist of selected plant families. Tersedia di: <http://apps.kew.org/wcsp> [diakses pada 18 September 2018]
- Yamaki, M., dan Honda, C. 1996. The Stilbenoids From *Dendrobium plicatile*. *Phytochemistry.* 43(1): 207-208.