KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANATOMI, DAN MOLEKULER *Coelogyne* ALAM DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTI BAKTERI SECARA *IN SILICO* DENGAN *MOLECULAR DOCKING*

Tesis

Oleh

METARI ARSITALIA
2327021007

PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025

ABSTRAK

KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANATOMI, DAN MOLEKULER *Coelogyne* ALAM DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTI BAKTERI SECARA *IN SILICO* DENGAN *MOLECULAR DOCKING*

Oleh

METARI ARSITALIA

Salah satu genus dari suku Orchidaceae yang terkenal adalah *Coelogyne.* Genus ini memiliki keanekaragaman dan potensi untuk dijadikan sebagai anti bakteri. *Coelogyne* banyak ditemukan di Kebun Raya Liwa, Lampung. Namun, masih memerlukan terkait karakterisasi dan identifikasi spesies serta potensinya sebagai anti bakteri yang belum banyak diteliti. Tujuan dari penelitian ini adalah karakterisasi morfologi, anatomi, dan Identifikasi molekuler pada *Coelogyne* alam serta mengetahui potensi *Coelogyne* sebagai anti bakteri secara *in silico* menggunakan *molecular docking.* Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 hingga Maret 2025. Hasil penelitian karakterisasi morfologi menunjukkan bahwa sampel C1, C2, dan C4 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat berdasarkan karakteistik susunan daun, bentuk daun, dan bentuk ujung daun. Karakterisasi anatomi menunjukkan sampel C3 dan C4 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat berdasarkan karakter lebar bukan stomata, panjang stomata, jumlah stomata, dan kerapatan stomata. Identifikasi molekuler menunjukkan terdapat dua spesies *Coelogyne,* yaitu *Coelogyne asperata* dan *Coelogyne dayana,* serta analisis *Molecular Docking* potensi *Coelogyne* sebagai anti bakteri diperoleh 2 senyawa unggul, (*7,8-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol dan 7,8-dimethoxyphenanthrene 2,4,6-triol*) dan 4 protein target (Gyrase B, Transpeptidase, Muramil Ligase, dan Dihidropteroat Sintase).

Kata Kunci : *Coelogyne,* Anatomi, Molekuler, *Molecular Docking,* Morfologi.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL, ANATOMICAL, AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF NATURAL *Coelogyne* AND ITS POTENTIAL AS ANTIBACTERIAL IN SILICO WITH MOLECULAR DOCKING

By

METARI ARSITALIA

One of the famous genera of the Orchidaceae family is *Coelogyne*. This genus has diversity and potential to be used as an antibacterial. *Coelogyne* is widely found in the Liwa Botanical Garden, Lampung. However, it still requires characterization and identification of species and their potential as antibacterials that have not been widely studied. The purpose of this study is to characterize morphology, anatomy, and molecular identification of natural *Coelogyne* and to determine the potential of *Coelogyne* as an antibacterial in silico using *molecular docking*. This research was conducted from October 2024 to March 2025. The results of the morphological characterization study showed that samples C1, C2, and C4 had a close kinship based on the characteristics of leaf arrangement, leaf shape, and leaf tip shape. Anatomical characterization showed that samples C3 and C4 had a close kinship based on the characteristics of non-stomata width, stomata length, number of stomata, and stomata density. Molecular identification showed that there were two *Coelogyne* species, namely *Coelogyne asperata* and *Coelogyne dayana*, and Molecular Docking analysis of the potential of *Coelogyn*e as an antibacterial obtained 2 superior compounds, (*7,8-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* and *7,8-dimethoxyphenanthrene 2,4,6-triol*) and 4 target proteins (Gyrase B, Transpeptidase, Muramil Ligase, and Dihydropteroate Synthase).

Keywords: *Coelogyn*e, Anatomy, Molecular, *Molecular Docking,* Morphology.

KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANATOMI, DAN MOLEKULER *Coelogyne* ALAM DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTI BAKTERI SECARA *IN SILICO* DENGAN *MOLECULAR DOCKING*

Oleh
METARI ARSITALIA

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS

Pada
Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung

PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025

Judul Penelitian	:	**KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANATOMI, DAN MOLEKULER *Coelogyne* ALAM DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTI BAKTERI SECARA *IN SILICO* DENGAN *MOLECULAR DOCKING***
Nama Mahasiswa	:	Metari Arsitalia
Nomor Pokok Mahasiswa	:	2327021007
Jurusan/Program Studi	:	Biologi/Magister Biologi (S2)
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	**Pembimbing II**
Dr. Mahfut, M.Sc.	**Favorisen R. Lumbanraja, Ph.D.**
NIP 198109092014041001	NIP 198301102008121002

Mengetahui,

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dr. Jani Master, M.Si.
NIP 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
   Ketua : Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc. .....

   Sekretaris : Favorisen R. Lumbanraja, Ph.D. .....

   Penguji,
   Bukan Pembimbing I : Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc. .....

   Bukan Pembimbing II : Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP. 196400326198902100l

Tanggal Lulus Ujian : 10 Juni 2025

LEMBAR PERNYATAAN

KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: Metari Arsitalia
NPM	: 2327021007
Prodi	: Magister Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi	: Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa tesis saya yang berjudul: **"Karakterisasi Morfologi, Anatomi, dan Molekuler *Coelogyne* Alam dan Potensinya Sebagai Anti Bakteri Secara *In Silico* dengan *Molecular Docking*"**

Dengan ini menyatakan bahwa baik gagasan, tulisan, data maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 10 Juni 2025

Yang Menyatakan

Metari Arsitalia

NPM. 2327021007

RIWAYAT HIDUP

Metari Arsitalia, atau akrab disapa Metari, lahir di Tegineneng pada Senin, 28 Agustus 2000. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Arwani dan Ibu Siti Fatimah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK Sayang Ibu pada tahun 2005 lalu melanjutkan pendidikan di SD Negeri 1 Natar pada tahun 2006. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Natar pada tahun 2012 kemudian pada tahun 2015 penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Natar. Setelah itu penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) tahun 2018 dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) pada tahun 2022. Pada tahun 2023, penulis tercatat sebagai mahasiswa Penerima Beasiswa Pascasajana Universitas Lampung pada Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Selama menempuh Pendidikan magister, penulis pernah menjadi presenter pada konferensi internasional, yaitu *International Conference on Technology, Social and Sciences* (IConTechss) tahun 2024. Menjadi delegasi *International Youth Excursion Network* Malaysia dan delegasi ASEAN *Youth Study* Singapura, Malaysia, dan Thailand.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik Allah SWT, Dzat yang Maha Agung yang telah memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan. Dengan mengharapkan ridho dari Allah SWT., ku persembahkan karya yang ku ketik dengan sabar dan ikhlas ini sebagai bentuk tanda bakti dan terima kasihku
kepada :

Dua orang yang paling berharga bagi hidupku, Ibu Siti Fatimah dan Bapak Arwani yang kusayangi, kucintai, dan sangat kuhormati yang selalu memberikan dukungan, doa tiada henti serta kasih sayangnya kepadaku sehingga aku tidak patah semangat di perjalanan. Kakak-kakak, Adik-adik kandungku (Sapta Ardiansah dan Fadly Kurniawan), keponakan, paman, bibi, kakek dan nenek yang selalu menghibur, memberi semangat dan motivasi untuk berkarya dan menuntaskan masa pendidikan S-1 ini.

Bapak dan ibu dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak bosan mendidik dan mengajariku penuh kesabaran, keikhlasan dan dedikasinya selama ini.

Para sahabatku dan rekan seperjuangan yang saling menguatkan, memberikan semangat dan dukungan satu sama lain, dan selalu berbagi pengalaman
yang mengajarkan arti dari kehidupan dan persaudaraan.

Dan untuk seseorang yang telah Allah SWT. siapkan yang kelak akan menjadi pelengkap dalam hidupku.

MOTTO

Setetes keringat orang tuaku yang keluar, ada seribu langkahku untuk maju

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai denngan kesanggupannya

(Al-Baqarah ayat 286)

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan

(Q.S Al-Insyirah pAyat 5)

The only person responsible for your future is YOU,
and ONLY you

Gusti Allah Mboten Sare

SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Bismillahirohmanirohim...
Alhamdulillahi robbil'alamin segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas berkah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan baik. Shalawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW., semoga kita selalu mendapatkan *syafa'atnya* di hari akhir. Tesis yang berjudul **"Karakterisasi Morfologi, Anatomi, dan Molekuler *Coelogyne* Alam dan Potensinya Sebagai Anti Bakteri Secara *In Silico* dengan *Molecular Docking*"** dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S2 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains (M.Si.), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan tesis ini penulis menyadari bahwa banyak dukungan, bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada :

1. Kedua orang yang paling berharga dalam hidup penulis, Bapak Arwani dan Ibu Siti Fatimah yang Tuhan karuniakan menjadi orang tua yang penulis sangat banggakan, dan sangat hormati atas segala kasih sayang, doa, dan dukungan materil yang telah diberikan. Terimakasih sudah memberikan kesempatan dan izin untuk menempuh pendidikan yang lebih tinggi kepada penulis;

2. Teruntuk kedua adik kandung yang sangat penulis sayangi (Sapta Ardiansah dan Fadly Kurniawan) yang telah memberikan motivasi, support dan warna dalam hidup untuk lebih semangat menggapai cita-cita dan memberikan contoh sebagai kakak yang lebih baik lagi;
3. Bapak Dr. Mahfut, M.Sc., selaku dosen pembimbing utama atas waktu dan tenaganya yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan, saran dan kritik kepada penulis dalam proses penelitian serta penyusunan tesis ini;
4. Bapak Favorisen R. Lumbanraja, Ph.D., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, kritik, dan saran dalam penyusunan tesis ini;
5. Bapak Prof. Bambang Irawan, M.Sc., selaku dosen pembahas pertama yang telah memberikan motivasi, saran, bimbingan, serta semangat kepada penulis sehingga dapat diselesaikannya tesis ini dengan baik;
6. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku dosen pembahas kedua dan Ketua Program Studi Magister Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan motivasi, kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam kesempurnaan tesis ini;
7. Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung;
8. Bapak dan Ibu Dosen, serta seluruh staf Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, terimakasih atas ilmu, dukungan, bantuan, dan pengalaman yang banyak diberikan kepada penulis;
9. Bapak Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
10. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung;
11. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani. E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung;
12. Seluruh Staf Kebun Raya Liwa Lampung Barat yang telah memberikan kesempatan penelitian kepada penulis;

13. Teman penelitian Lulu Anbiya, S.Si., dan David Asadudin, S.Si., terimakasih telah memberikan semangat, bantuan, dan motivasi kepada penulis hingga dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik;
14. Teman Perkuliahan Biologi Mardiah Indah dan Suci Susanti yang sangat membantu penulis sedari semasa mahasiswa baru hingga lulus saat ini;
15. Teman Sejawat "HAMBA ALLAH" Intan Safitri, S.P., Diah Pangastuti Rahayu, S.T.P., Annisa Ghina Istighfarani, S.I.Kom., Wahyudi, S.P., Rhezandy Gunawan, S.Hut., terimakasih sudah hadir dan telah memberikan banyak uluran tangan, telinga dan mau menemani perjalanan Magister ini menjadi lebih berwarna, semoga pertemanan ini insyaallah bisa sampai menuju surga-Nya;
16. Teman Terbaik Lidya Septaria Sinurat sahabat yang sangat penulis sayangi yang telah banyak memberikan bantuan, dukungan, semangat, motivasi, *support*, keluh-kesah, dan keceriaan kepada penulis;
17. Teruntuk Presplak Tim Bego Sisa PKSDA (Chika, Mukidi, Ulfah) selaku tim hore yang selalu menghibur, memberikan informasi, serta telah banyak membantu penulis;
18. Tim *Cake Dori Lampung* (Angguman, Dian, Ayu, Salma, Nung, Dina, Widya, Lita, Mawar, Dila) selaku rekan kerja yang senantiasa memberi semangat, berbagi cerita dengan penulis;
19. Teman – teman kecil (Nia, Reni, Dita, Seli, Novi, Tomi, Lala, Wira) atas kebersamaan selama bertahun-tahun, semangat, dukungan, dan keceriaan kepada penulis;
20. Teman – teman seperjuangan Magister Biologi Angkatan 2023 yang tidak bisa disebutkan satu persatu namanya atas semangat, motivasi, dukungan, kekeluargaan yang telah terjalin selama ini;
21. Teman – teman seperjuangan Beasiswa Pascasarjana yang tidak bisa penulis sebutkan namanya satu persatu, terimakasih atas semangat, motivasi dan segala bantuan yang diberikan selama ini;
22. Ucapan terimakasih sebesar – besarnya pada diri saya sendiri "Metari Arsitalia" yang sudah mampu membagi waktu atas segala kegiatan sehingga

bisa menyelesaikan tesis ini dengan baik dan tepat waktu. Terimakasih karena bisa terus survive, tumbuh dengan baik ya;

23. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu – persatu namanya yang telah memberikan masukan, kritik, saran, motivasi, keceriaan, dan pelajaran dalam hidup;
24. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Penulis menyadari dalam menulis tesis ini masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan, untuk itu penulis mengharapkan kritik saran dan masukan yang membangun sehingga tesis ini dapat berguna bagi orang yang membacanya. Semoga segala kebaikan selalu menyertai kita semua.

Bandar Lampung, 10 Juni 2025
Penulis,

Metari Arsitalia

DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL DEPAN ..... **i**
ABSTRAK ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
SAMPUL DALAM ..... **iv**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **v**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **vi**
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS ..... **vii**
RIWAYAT HIDUP ..... **viii**
PERSEMBAHAN ..... **ix**
MOTTO ..... **x**
SANWACANA ..... **xi**
DAFTAR ISI ..... **xv**
DAFTAR GAMBAR ..... **xvii**
DAFTAR TABEL ..... **xviii**
I. .PENDAHULUAN **1**
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Tujuan Penelitian 4
1.3. Manfaat Penelitian 5
1.4. Kerangka Pikir 5
1.5. Hipotesis 7
II. TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1. *Coelogyne* sp. 8
2.2. Karakter Morfologi 10
2.3. Karakter Anatomi 12
2.4. Identifikasi Molekuler 13
2.5. Anti Bakteri 15
2.6. Studi *Molecular Docking* 16
III. METODE PENELITIAN **19**
3.1. Waktu dan Tempat 19
3.2. Alat dan Bahan 19
3.3. Rancangan Penelitian 22
3.4. Prosedur Penelitian 23
3.4.1. Preparasi Sampel 23
3.4.2. Karakter Morfologi 23

3.4.3. Karakter Anatomi 25
3.4.4. Identifikasi Molekuler 26
3.4.4.1. Ekstraksi DNA Sampel 26
3.4.4.2. Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA 27
3.4.4.3. Amplifikasi DNA dengan PCR 28
3.4.4.4. Visualisasi Hasil PCR dengan Elektroforesis 29
3.4.4.5. Sekuensing 30
3.4.5. *Molecular Docking* 30
3.4.5.1. Persiapan Struktur Ligan 30
3.4.5.2. Uji Lipinski (*Rule of Five*) 30
3.4.5.3. Persiapan Struktur Protein 31
3.4.5.4. Proses Penambatan Molekuler 31
3.4.5.5. Visualisasi Interaksi Ligan dengan Protein 31
3.5. Analisis Data 32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 34
4.1. Pengamatan Karakter Morfologi 34
4.1.1. Analisis Fenetik *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Morfologi 38
4.2. Pengamatan Karakter Anatomi 42
4.2.1. Analisis Fenetik *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Anatomi 45
4.3. Pengamatan Karakter Molekuler 48
4.3.1. Uji Kualitatif DNA Sampel *Coelogyne* 48
4.3.2. Profil Pita DNA Hasil Amplifikasi 49
4.3.3. Analisis Filogenetik 50
4.4. Studi *In Silico* Dengan *Molecular Docking* 61
4.4.1. Aturan Lipinski (*Lipinski's Rule of Five*) 68
V. KESIMPULAN DAN SARAN 70
5.1. Kesimpulan 70
5.2. Saran 71
DAFTAR PUSTAKA 72
LAMPIRAN 83

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. *Coelogyne speciosa* 9
2. Diagram Alir Rancangan Penelitian.....22
3. Karakter Morfologi 6 Sampel *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa.....34
4. Dendogram Pohon Kekerabatan 6 Sampel *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Morfologi.....39
5. Hasil Analisis PCA Pada 6 Sampel *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Morfologi.....40
6. Struktur Stomata 6 Sampel *Coelogyna* sp. 43
7. Dendogram Pohon Kekerabatan 6 Sampel *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Anatomi 45
8. Hasil Analisis PCA Pada 6 Sampel *Coelogyne* sp. Berdasarkan Karakter Anatomi 47
9. Profil Pita Primer ITS1/ITS2 Pada Sampel *Coelogyne* sp. 50
10. Sekuen Nukleotida Sampel C1 dan C5 51
11. Hasil Pencarian Sekuen Homolog Sampel *Coelogyne*.....53
12. *Hasil Allignment* Sekuen Nukleotida Yang Mengalami Mutasi 55
13. Rekontruksi Pohon Filogenetik Menggunakan 1000 Kali *Boostrap*.....58

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Sekuens Primer Spesifik Untuk Amplifikasi PCR.....20
2. Struktur 3 Dimensi dan Kode SMILES Senyawa.....21
3. Karakterisasi Anggrek Berdasarkan Morfologi Daun 24
4. Komposisi reaktan PCR untuk satu kali reaksi amplifikasi DNA 28
5. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR.....29
6. Analisis Karakter Morfologi *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa 35
7. Indeks Similarity (%) Karakter Morfologi Pada 6 Sampel *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa.....38
8. Karakter yang Berperan dalam Pengelompokkan 6 Sampel *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa.....42
9. Nilai Rata-Rata Karakter Stomata Pada 6 Sampel *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa.....43
10. Indeks Similarity (%) Karakter Anatomi Pada 6 Sampel *Coelogyne* sp. di Kebun Raya Liwa.....44
11. Karakter Yang Berperan Dalam Pengelompokkan *Coelogyne* sp. 48
12. Presentase Kandungan Basa Nitrogen.....52
13. *Coelogyne* Yang Dibandingkan Dengan Sampel Lain Untuk Analisis Filogenetik.....54
14. Hasil Analisis Jumlah Kejadian Mutasi Pada Sampel Penelitian.....55
15. Frekuensi Kandungan Asam Amino Pada Sampel Penelitian.....57
16. Nilai Jarak Genetik.....60
17. Hasil *Docking* (kkal/mol) 40 Senyawa Pada Coelogyne.....61
18. Interaksi Ligan Terpilih Dengan Gyrase B (1KZN).....63
19. Hasil Docking Ligan Terpilih dengan Gyrase B (1KZN) 63
20. Interaksi Ligan Terpilih Dengan Transpeptidase (6NTW) 64
21. Hasil Docking Ligan Terpilih dengan Transpeptidase (6NTW) 65
22. Interaksi Ligan Terpilih Dengan Muramil Ligase (1E8C) 66
23. Hasil Docking Ligan Terpilih Dengan Muramil Ligase (1E8C).....66
24. Interaksi Ligan Terpilih Dengan Dihidropteroat Sintase (5V7A).....67
25. Hasil Docking Ligan Terpilih Dengan Dihidropteroat Sintase (5V7A).....68
26. Sifat Ligan Berdasarkan Aturan Lipinski.....69

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Orchidaceae merupakan salah satu suku anggrek yang memiliki tingkat keragaman yang cukup besar dan hampir tersebar di seluruh bagian dunia. Famili ini menempati 7-10% tumbuhan berbunga dan memiliki kurang lebih 20.000 sampai 35.000 jenis di dunia. Salah satu genus anggrek yang terkenal yaitu genus *Coelogyne*. Genus ini tumbuh epifit di daerah tropis dataran rendah dan pegunungan terutama hutan. Contoh dari genus *Coelogyne* ini adalah *Coelogyne pandurata* (anggrek hitam) dan *Coelogyne asperata* (anggrek mutiara) (Hartini dan Hary, 2009). Tanaman ini merupakan salah satu tanaman hias yang dinikmati keindahan bunganya karena memiliki bentuk, corak, warna, dan wangi yang khas. Keanekaragamannya membuat tanaman ini memiliki potensi untuk terus dikembangkan guna meningkatkan nilai ekonomi karena permintaan yang cukup meningkat (Kementan RI, 2014).

Kebun Raya Liwa dikembangkan pertama kali pada 2007 oleh Pemerintah Kabupaten Lampung Barat bersama Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia yang sekarang dikenal dengan BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) dengan tujuan sebagai pusat konservasi flora, objek wisata, edukasi, penelitian dan jasa lingkungan. Salah satu anggrek yang dapat ditemui di Kebun Raya Liwa ini adalah genus *Coelogyne*. Namun, genus anggrek ini di Kebun Raya Liwa masih memerlukan informasi terkait keragamannya yang menunjukkan tingkat hubungan

kekerabatannya sebagai dasar untuk seleksi (Nandariyah, 2010). Yulia dan Russeani (2008) menyatakan bahwa semakin jauh hubungan kekerabatan suatu spesies tanaman, maka semakin sulit untuk disilangkan.

Penentuan hubungan kekerabatan dapat dilakukan secara fenotipik dan genotipik. Hubungan kekerabatan secara fenotipik dapat dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi dan anatomi. Dan hubungan kekerabatan secara genotipik dapat dilakukan berdasarkan pengamatan molekuler. Dalam penelitian ini yang dimaksud dengan karakterisasi morfologi dan anatomi adalah proses yang digunakan untuk mengetahui karakter fenotip dari suatu tanaman, dengan mengamati daun, batang, bunga, buah, akar dan lain sebagainya yang mencakup seluruh morfologi tanaman dan mengetahui hubungan kekerabatannya (Susantidiana *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan Pramono (2022) pada penelitiannya yang berjudul Anatomi Paradermal Daun Anggrek *Dendrobium discolor* dan *Phalaenopsis amabilis* secara Kuantitatif dan Deskriptif menyatakan bahwa bentuk dari stomata daun antar tanaman memiliki ukuran yang berbeda.

Adanya kelemahan dalam karakterisasi secara morfologi dan anatomi dapat diatasi dengan identifikasi secara molekuler. Identifikasi molekuler dikatakan lebih efektif dalam analisis genetik suatu tanaman karena sifat genetik cenderung stabil pada perubahan lingkungan dan tidak dipengaruhi oleh umur sehingga dapat memberikan informasi genetik yang lebih akurat (Julisaniah *et al.*, 2008). Teknik identifikasi molekuler yang digunakan pada penelitian ini adalah melalui DNA *barcoding.* Teknik ini dapat dijadikan sebagai metode alternatif untuk mengidentifikasi tanaman (Hebert *et al.*, 2003). DNA *barcoding* merupakan metode identifikasi spesies menggunakan potongan DNA pendek yang

disebut dengan *barcode.* Keunggulan DNA *barcoding* adalah dapat mengidentifikasi suatu organisme meskipun spesiemn tidak dalam bentuk utuh hasil pengamatan diperoleh lebih cepat, akurat, dan tidak ambigu (Hajibabaei *et al.,* 2007). Prinsip DNA *barcoding* adalah identifikasi menggunakan sekuen DNA pendek atau *barcode* DNA. Sekuen DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui kekerabatan antar spesies dengan melihat konstruksi pohon filogenetiknya (Rohimah *et al.,* 2018). Karakteristik sekuen DNA yang dapat dijadikan sebagai DNA *barcode* antara lain memiliki ukuran sekuen yang pendek (mudah diamplifikasi), mempunyai variabilitas genetik yang tinggi pada tingkat spesies, dan menggunkaan primer universal untuk amplifikasi PCR (Kress dan Erickson, 2007).

Penelitian yang dilakukan Su'udi (2022) yang berjudul DNA *Barcoding* Anggrek *Dendrobium linearifolium* Teijsm & Binn. Berdasarkan Penanda Molekuler ITS2 menyatakan hasil sekuensing dan penyejajaran DNA sampel *Dendrobium linearifolium* sekuens ITS2 dapat dijadikan sebagai *barcode* untuk identifikasi anggrek karena memberikan hasil yang spesifik dalam membedakan sampai tingkat spesies. *Barcode* potensial juga dapat berasal dari genom nukleus/inti, yaitu daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *Internal Transcribed Spacer* yang digunakan adalah ITS2, yaitu penanda molekuler untuk mengidentifikasi beberapa spesies *Coelogyne* selain itu berpotensi untuk menganalisis hubungan kekerabatan dari genus *Coelogyne* (Feng *et al.,* 2015). ITS2 memiliki ukuran sekitar 400 – 800 bp merupakan lokus tunggal dan dapat menjadi penanda yang cocok untuk identifikasi dan klasifikasi taksonomi. ITS2 telah disarankan sebagai *barcode* yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi tanaman obat sebagai *barcode universal* (Han *et al.*, 2013). Keberhasilan ITS2 dalam

mengidentifikasi sebesar 92,7% pada tingkat spesies dan 99,9% pada tingkat genus (Chen *et al.,* 2010).

Hossen *et al.,* (2024) menyatakan *Coelogyne* banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional selama bertahun-tahun dan potensinya sebagai agen anti bakteri sangat menarik. *Molecular docking* dilakukan untuk memprediksi afinitas pengikatan fitokimia terpilih terhadap protein tertentu untuk mengidentifikasi penyebab penghambatan bakteri. Pada studi *molecular docking Coelogyne* mengidentifikasi beberapa senyawa terpilih diantaranya *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol asetat.* Dengan adanya senyawa ini dapat diketahui senyawa tersebut memiliki aktivitas terhadap agen anti bakteri atau tidak. Sehingga memiliki implikasi signifikan untuk pengembangan agen bakteri yang baru dan efektif. Untuk mengetahui potensi senyawa tersebut dapat dilakukan secara *in silico* menggunakan *molecular docking.*

Berdasarkan keberadaan *Coelogyne* di Lampung belum dilakukannya analisis terkait potensinya sebagai anti bakteri secara *in silico* dengan *molecular docking.* Maka perlu dilakukannya penelitian ini yang berjudul "Karakterisasi Morfologi, Anatomi, dan Molekuler *Coelogyne* Alam dan Potensinya Sebagai Anti Bakteri Secara *In Silico* dengan *Molecular Docking*".

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Karakterisasi karakter morfologi dari anggrek *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
2. Karakterisasi karakter anatomi dari anggrek *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.

3. Identifikasi molekuler dari anggrek *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
4. Mengetahui potensi *Coelogyne* sebagai anti bakteri secara *In Silico* dengan *Molecular Docking.*

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan pada penelitian ini sebagai berikut

1. Didapatkan *database* terkait anggrek *Coelogyne* alam yang terdapat di Kebun Raya Liwa.
2. Informasi yang diperoleh dapat digunakan untuk konservasi *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
3. Dapat dimanfaatkan sebagai sumber informasi dari genus *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
4. Data dapat digunakan untuk mengetahui potensi *Coelogyne* sebagai anti bakteri.

1.4. Kerangka Pikir

Anggrek merupakan tanaman hias yang memiliki nilai potensial tinggi dan dapat dijadikan devisa negara. Salah satu genus anggrek terkenal adalah *Coelogyne*, genus ini tumbuh epifit di daerah tropis dataran rendah dan pegunungan terutama hutan hujan. Anggrek ini terdiri dari 200 spesies yang tersebar diseluruh Asia Tenggara dengan pusat keragaman utama di Kalimantan, Sumatera, dan Himalaya. Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan di Kebun Raya Liwa Kabupaten Lampung Barat Provinsi Lampung. Pada daerah ini diversitas anggrek sangat melimpah namun masih minim dengan informasi terkait keragaman anggrek tersebut.

Karakterisasi merupakan suatu kegiatan dalam menentukan dan mengetahui sifat morfologi yang dapat dimanfaatkan dalam membedakan antar aksesi, menilai besarnya keragaman genetik, mengidentifikasi varietas menilai jumlah aksesi dan sebagainya. Penelitian ini menggunakan tahapan karakterisasi morfologi, karakterisasi anatomi, identifikasi molekuler dan studi *in silico* dengan *molekuler docking*. Dimana karakterisasi morfologi untuk mengetahui tipe morfologi daun, bunga, batang *Coelogyne* yang berada di Kebun Raya Liwa dan karakterisasi anatomi adalah mengetahui karakter penting dalam menunjang informasi terkait hubungan kekerabatan *Coelogyne.* Karakter anatomi menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara anggrek dengan adaptasi terhadap lingkungannya. Anatomi juga memiliki ciri khas pada daun tumbuhan yang berbeda antargenus dalam satu famili. Hal ini dapat dilihat pada perbedaan bentuk dan ukuran sel epidermis dan stomata dari daun *Coelogyne*. Sedangkan identifikasi molekuler dapat dilakukan dengan menggunakan metode DNA *barcoding* menggunakan primer ITS1 dan ITS2.

Data terkait karakterisasi, identifikasi dan publikasi terkait *Coelogyne* di Kebun Raya Liwa masih sangat kurang sehingga diperlukan adanya penelitian ini. *Coelogyne* juga mengandung banyak fitokimia yang dapat dijadikan kandidat sebagai senyawa obat, diantaranya (*7,8-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol dan 7,8-dimethoxyphenanthrene 2,4,6-triol)* dan 4 protein target (Gyrase B, Transpeptidase, Muramil Ligase, dan Dihidropteroat Sintase) yang memiliki aktivitas sebagai agen anti bakteri. Untuk mengetahui hal tersebut dilakukan *studi in silico* dengan *molekuler docking* untuk mengetahui efektivitasnya sebelum diujikan sebagai kandidat obat.

1.5. Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut

1. Diperoleh karakter yang berperan berdasarkan karakterisasi morfologi anggrek *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
2. Diperoleh karakter yang berperan berdasarkan karakterisasi anatomi anggrek *Coelogyne* alam di Kebun Raya Liwa.
3. Diperoleh spesies anggrek *Coelogyne* alam berdasarkan identifikasi molekuler di Kebun Raya Liwa.
4. Diperoleh potensi anti bakteri dari senyawa yang terkandung dalam *Coleogyne* secara *in silico* dengan *molecular docking*.

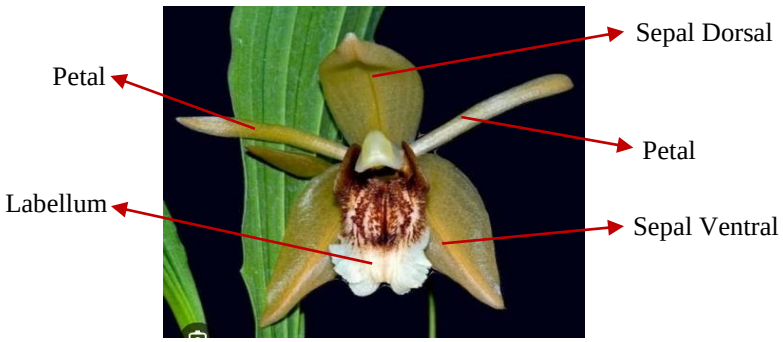
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Coelogyne* sp.

Coelogyne berasal dari bahasa Yunani yaitu "*Koilos"* yang artinya bergaung/lubang dan "*Gyne*" yang artinya perempuan/wanita. Kemudian untuk penamaan untuk anggrek merujuk pada bentuk *column* (alat reproduksi pada bunga anggrek yang berbentuk pipa) yang menjadi ciri khas dari *Coelogyne* (Fitrianto *et al.,* 2020). *Coelogyne* terdiri dari 200 spesies yang tersebar di seluruh Asia Tenggara dengan pusat keragaman utama di Kalimantan, Sumatera dan Himalaya. Kebanyakan tumbuh di daerah tropis dataran rendah dan hutan (Gravendeel *et al.*, 2004). Beberapa contoh dari genus *Coelogyne* yang terdapat di Indonesia diantaranya *C. longifolia, C. beccarii, C. swaniana, C. asperata* dan *C. pandurata. Coelogyne pandurata* merupakan salah satu anggrek langka di Indonesia dan biasa dikenal dengan nama Anggrek Hitam (Parnata, 2005). Klasifikasi *Coelogyne* sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Orchidales
Suku	: Orchidaceae
Marga	: *Coelogyne*
Jenis	: *Coelogyne* sp.

Tipe pertumbuhan anggrek epifit menurut Sutopo (2009) yaitu monopodial dan simpodial. *Coelogyne* memiliki tipe pertumbuhan simpodial. Tipe pertumbuhan simpodial memiliki batang utama yang beruas yang akan menghasilkan pertumbuhan baru. *Coelogyne* memiliki umbi semu (*pseudobulb*) yang berfungsi sebagai cadangan makanan dan pangkal anggrek berkembang dari rhizoma dengan bentuk silindris, menebal, berbentuk berupa benang serta umumnya panjang. Comber (2001) menyatakan bunga *Coelogyne* memiliki beberapa bagian utama yaitu daun kelopak (*sepal*), daun mahkota (*petal*), benang sari (*stamen*), putik *(pistil*) dan bakal buah (*ovarium*). *Sepal Coelogyne* berjumlah tiga buah. *Sepal* bagian atas disebut *sepal dorsal*, sedangkan dua lainnnya disebut *sepal lateral. Coelogyne* juga memiliki tiga buah *petal. Petal* pertama dan kedua letaknya berseling dengan *sepal. Petal* ketiga mengalami modifikasi menjadi bibir (*labellum*). Pada *labellum* terdapat gumpalan yang mengandung protein, minyak dan zat pengharum. *Labellum* juga memiliki warna yang sangat beragam dan memiliki fungsi untuk menarik serangga untuk penyerbukan. Berikut pada Gambar 1 merupakan gambar dari morfologi *Coelogyne speciosa*.



Gambar 1. *Coelogyne speciosa* (Alamendah, 2014).

Coelogyne selain dapat dinikmati keindahan bunganya juga memiliki manfaat lain yang digunakan oleh masyarakat. Wahyudiningsih (2017) menyatakan *Coelogyne cristata* yang berpotensi sebagai bahan obat herbal dan fisioterapi. Bagian yang sering dimanfaatkan

yaitu pseudobulbs, pseudobulbs dioleskan pada tempat yang sakit. *Coelogyne* mengandung *Coeloginanthrin, Coeloginanthridin,* dan *Combretastatin C-1*. Contoh *Coelogyne* yang dapat dijadikan sebagai obat yaitu *Coelogyne pandurata* yang merupakan anggrek langka yang ditemukan di Kalimantan dan Papua serta dapat pula dimanfaatkan sebagai induk persilangan karena kelopaknya yang berwarna hitam sehingga dapat menghasilkan jenis hibrida yang baru, *Coelogyne corymbosa* Lindl. Bagian organ dimanfaatkan adalah pseudobulbs digunakan untuk penyembuhan luka bakar (Kumar, 2002), dan jenis *Coelogyne nervosa* A.Rich. merupakan tumbuhan endemik India Selatan yang dimanfaatkan sebagai obat herbal. Anggrek ini umumnya ditemykan tumbuh pada cabang pohon di Kerala dan Tamil Nadu. *Coelogyne nervosa* terancam punah akibat dipanen secara berlebihan untuk perdagangan obat herbal, bagian yang digunakan sebagai obat adalah bagian akar, rhizoma, dan keseluruhan bagian tumbuhan (Murugesan, 2005).

2.2. Karakter Morfologi

Karakterisasi morfologi adalah proses penentuan ciri fenotipik tumbuhan dengan mengamati morfologi batang, daun, bunga, termasuk semua tumbuhan, dan memahami hubungan antar spesies. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengetahui hubungan antar individu tumbuhan adalah dengan mengkarakterisasi ciri-ciri masing-masing tumbuhan. Dalam merumuskan strategi konservasi budidaya, pemanfaatan dan pengelolaan sumber daya genetik tanaman secara berkelanjutan, perlu dipahami informasi keragaman genetik tanaman pada tingkat individu spesies atau populasi sebagai dasar pertimbangan. Keragaman bunga anggrek bisa dilihat dari beragamnya warna, bentuk, serta ukuran dari bunga anggrek itu sendiri. Selain dilihat dari keanekaragaman bentuk serta ukuran

bunga, keanekaragaman bunga juga bisa dilihat dari penyerbukan bunga itu sendiri (Moyroud and Glover, 2017).

Karakterisasi morfologi juga digunakan untuk mengetahui sifat morfologi suatu plasma nutfah yang dimanfaatkan dalam membedakan antar aksesi, menilai besarnya keragaman genetik, mengidentifikasi varietas, menilai jumlah aksesi dan sebagainya (Bermawie, 2005). Menurut Miswarti *et al.,* (2021) menyatakan pengamatan morfologi yang dilakukan pada tanaman meliputi bentuk pseudobulb, daun, bunga, serta pola pertumbuhan dari tanaman tersebut yang kemudian diidentifikasi dengan menggunakan pedoman pengamatan anggrek. Selain dikarenakan sifat genetik turunan induk, keragaman yang tinggi pada bagian bunga family Orchidaceae dapat disebabkan oleh dua hal yaitu berupa seleksi alam serta proses adaptasi pada habitat aslinya dan penyebab dari luar dapat berupa induksi perubahan genetik yang memfasilitasi adanya evolusi. Banyak spesies *Coelogyne* lainnya memiliki karakteristik yang sama, yang menunjukkan bahwa standar klasifikasi yang berguna untuk mengidentifikasi spesies *Coelogyne* (Diantina *et al.*, 2020).

Keanekaragaman pada anggrek dapat dipelajari dari aspek morfologi dan anatomi. Pengamatan morfologi lebih mudah dilakukan karena karakter yang dominan dapat ditemukan di beberapa bagian tanaman (Sabran *et al.*, 2003). Selain itu, karakteristrik morfologi lebih mudah dipahami karena langsung dapat dilihat oleh mata dan nampak secara jelas dibandingkan dengan karakteristik molekuler (Ainiah *et al.*, 2017). Tanaman hias seperti anggrek perlu dikarakterisasikan berdasarkan struktur secara morfologi untuk mengetahui keragaman tanaman anggrek dari segi morfologi atau bentuk, perkembangan serta penampilan secara eksternal dan berbagai organ yang terdapat dalam tumbuhan (Ash-Shidqy, 2018).

Ni Kadek *et al.*, (2023) menyatakan hasil persilangan anggrek *Dendrobium* menunjukkan karakter morfologi yang berbeda berdasarkan dari tetua persilangan yang digunakan, namun terdapat beberapa sifat karakter yang selalu muncul pada anggrek hasil persilangan dengan tetua yang sama.

2.3. Karakter Anatomi

Karakterisasi anatomi anggrek dapat diamati pada bagian epidermis daun. Epidermis pada tanaman anggrek umumnya berbentuk polygonal memanjang, segienam dan polygonal. Bentuk epidermis polygonal menyebabkan stomata tersebar secara beraturan dan tidak beraturan (Tohari, 2020). Karakter anatomi juga terdapat pada stomata. Pada daun yang hijau, stomata dapat ditemukan pada permukaan atas dan bawah, atau kemungkinan hanya terdapat pada satu permukaan saja, yaitu permukaan bawah (Khairani, 2020).

Pada anggrek karakter anatomi yang diamati adalah karakter stomata. Karakter stomata seperti kerapatan stomata, panjang stomata digunakan pada identifikasi keragaman pada beberapa genus, salah satunya adalah genus *Coelogyne* (Handayani dan Pramono, 2022). Karakter anatomi stomata sangat berperan penting dalam analisis keragaman. Melalui keragaman anatomi yang telah berinteraksi dengan lingkungan tempat tumbuhnya akan menjadi awal dalam seleksi memilih aksesi yang paling baik sebagai tanaman hias serta dapat diarahkan menjadi varietas baru untuk dibudidayakan.

Stomata dapat dikelompokkan menjadi 7 tipe berdasarkan sel epidermis yang berdekatan dengan sel penjaga. Tujuh tipe stomata tersebut yaitu tipe anomositik, tipe anisositik, tipe diasitik, tipe parasitik, tipe aktinositik, tipe tetrasitik, dan tipe siklositik (Cotthem,

1970). Karakter anatomi pada tanaman dapat digunakan untuk menguatkan batasan takson pada tanaman. Pendekatan anatomi juga dapat digunakan untuk membedakan jenis, salah satunya karakter anatomi stomata daun pada tanaman. Pada satu familia yang sama bisa terdapat perbedaan pada karakter anatomi stomata daun atau dapat pula terjadi perbedaan karakter stomata pada daun dalam satu spesies yang sama (Fahn, 1992).

Palupi (2016) menyatakan anatomi daun dari tiga varietas *Dendrobium (Dendrobium valentine blue, Dendrobium sonia dan Dendrobium woon leng)* memiliki jumlah lapisan epidermis atas dan bawah yang sama yaitu 2 lapis. Sel epidermis terdiri dari dua lapisan karena terdapat pembelahan periklinal (pembelahan sejajar dengan permukaan) protoderm. Bentuk sel epidermis juga sama yaitu poligonal. Stomata hanya ditemukan dipermukaan bawah daun saja. Tipe stomata ketiga jenis anggrek itu adalah anomositik, dengan bentuk sel penjaga berbentuk ginjal, sedangkan sel tetangga berjumlah empat pada ketiga varietas anggrek *Dendrobium.*

2.4. Identifikasi Molekuler

Antara spesies *Coelogyne* sp. satu dengan yang lain tentu memiliki perbedaan yang menunjukkan keunikan atau ciri khas masing-masing, diantaranya perbedaan dari segi morfologi. Namun penggunaan karakteristik morfologi untuk menentukan kekerabatan masih kurang akurat. Karena keterbatasan karakteristik morfologi tersebut dibutuhkan karakter lain yang dapat mendukung sistematika yaitu identifikasi molekuler (Zulfahmi, 2013). Penanda molekuler merupakan segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. Karena berkaitan dengan materi genetik, tingkat akurasi penanda molekuler lebih sesuai dalam menghasilkan pola kekerabatan. Identifikasi keragaman genetik dan hubungan

kekerabatan anggrek *Coelogyne* sangat penting untuk keberlanjutan konservasi dan meningkatkan kegunaan dari sumber genetik tanaman (Wang *et al.,* 2009).

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).

Primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler diantaranya adalah sekuen primer ITS1 dan ITS2. Proses identifikasi spesies pada anggrek ini diawali dengan mengisolasi DNA genom dan memperbanyak melalui PCR (Feng *et al*., 2015). Primer yang disarankan oleh *The Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) untuk DNA *barcoding* anggrek adalah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan salah satu penanda molekuler DNA yang sering digunakan oleh para ahli untuk menganalisis kekerabatan pada tumbuhan, baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah. Menurut Baldwin *et al.,* 1995, ITS memiliki keunggulan untuk analisis filogenetik, diantaranya yaitu letaknya yang berulang-ulang di sepanjang DNA genom, mudah mengalami mutasi sehingga dapat menunjukkan variasi sekuen yang dapat membantu menentukan pola kekerabatan, dan berukuran kecil yaitu kurang dari 700 pasang basa (bp). Kress *et al.,* 2005, telah menguji sekuen ITS sebagai *barcode* DNA tumbuhan berbunga pada tingkat spesies dan menunjukkan

bahwa ITS memiliki nilai divergensi yang jauh lebih tinggi dibandingkan wilayah plastid serta memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi sebesar 88%.

2.5. Anti Bakteri

Bakteri memiliki tingkat kecenderungan resistensi terhadap berbagai obat-obatan dan terus berkembang biak meskipun telah diberikan perlakuan anti bakteri dalam jumlah yang cukup (Sari, 2015). Resistensi bakteri terhadap obat-obatan harus pula diimbangi dengan pengobatan yang tepat termasuk anti bakteri (Fatisa, 2013). Menurut Septiani (2017) menyatakan anti bakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu senyawa aktif dapat merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis asam nukleat dan protein bakteri. Kemampuan aktivitas anti bakteri pada tanaman disebabkan oleh kandungan metabolit sekundernya yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh tanaman.

Beberapa masalah besar yang dihadapi pada masa kini adalah mikroba patogen yang mengalami resistensi antibiotik. Kebanyakan antibiotik yang digunakan adalah bahan kimia yang mampu menyebabkan mikroba menjadi resisten (Prestinaci *et al.*, 2015). Oleh karena itu, dibutuhkan molekul bioaktif sebagai alternatif baru penggunaan antibiotik. Menurut Hossen *et al* (2024) menyatakan ekstrak *Coelogyne suaveolens* yang banyak digunakan sebagai obat tradisional memiliki aktivitas anti bakteri yang signifikan terhadap *Pseudomonas aeruginosa, Staphilococcus aureus, Escherichia coli,* dan *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan patogen umum.

Berdasarkan penelitian Hameneh *et al.,* (2019), mekanisme senyawa metabolit sebagai anti bakteri berkaitan erat dengan terganggunya proses sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri tidak sempurna. Dengan adanya senyawa *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol asetat* pada *Coelogyne* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan bermanfaat sebagai anti-infeksi bakteri (Jamaluddin *et al.,* 2015).

2.6. Studi *Molecular Docking*

Studi *in silico molekuler docking* merupakan metode komputasi untuk memprediksi interaksi antara molekul kecil (ligan) dan molekul besar (reseptor atau protein) (Ali *et al.,* 2018). Tujuan dilakukannya *docking* untuk mengetahui konformasi dan energi bebas ikatan yang terlibat dalam interaksi antara reseptor dan ligan (Trott dan Olson, 2009). Penelitian komputasi *molecular docking* dilakukan sebagai penelitian pendahuluan yang digunakan untuk memprediksi apakah senyawa tersebut memiliki potensi anti bakteri. Parameter yang digunakan untuk menilai hasil prediksi adalah skor docking dan kesamaan residu antara ligan asli dan senyawa alam tersebut. Adapun diantaranya beberapa senyawa yang dapat digunakan sebagai anti bakteri dan kandidat senyawa yang paling baik untuk dilakukan uji dengan *molecular docking* yaitu senyawa *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol* dengan 4 protein yaitu Gyrase (1KZN), Transpeptidase (6NTW), Muramil Ligase (1E8C), dan Dihidropteroat Sintase (5V7A).

Tujuan penemuan potensi anti bakteri pada anggrek *Coelogyne* sp. ini untuk mengidentifikasi, mengoptimalkan dan memvalidasi secara klinis senyawa yang mengikat dan memodulasi fungsi protein target yang terlibat (Fang *et al.,* 2016). Metode analisa bioinformatika

dapat digunakan untuk membantu proses identifikasi target dengan *molecular docking*. Dengan membandingkan kemiripan struktur senyawa uji terhadap kumpulan senyawa yang diketahui targetnya dalam satu atau lebih database maka diprediksi makromolekul mana yang berpotensi sebagai target. Analisis *docking* memungkinkan identifikasi awal terhadap molekul target yang berpotensi sebagai agen anti bakteri dari senyawa alami. Analisis docking memungkinkan untuk mengetahui model pengikatan yang terjadi sehingga dapat digunakan untuk memastikan fungsinya sebagai agen anti bakteri (Phosrithong dan Ungwitayatorn, 2010).

Sebelum dilakukannya *docking* perlu dilakukan pengecekan sifat-sifat dari ligan yang digunakan, apakah memenuhi aturan Lipinski. Suatu senyawa dapat dijadikan sebagai bahan kandidat obat apabila telah memenuhi aturan *Lipinski's Rule of Five.* Aturan ini untuk memperkirakan kemampuan suatu senyawa dalam absorpsi dan permeasi (Fakih *et al.*, 2022). Pengujian Lipinski pada senyawa isolat dilakukan secara in-silico menggunakan situs web SwissADME, yang menggunakan *Application Programming Interface* (API) OpenBABEL untuk nilai bobot molekul, jumlah donor ikatan hidrogen, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen. Rata-rata dari *implici*t LogP yang didapat dari perhitungan energi bebas Gibbs, LogP dari XLOGP3, LogP dari metode WildmannCrippen, LogP dari metode Moriguchi, dan LogP dari SILICOS-IT digunakan untuk memperhitungkan nilai LogP (Daina *et al.,* 2017).

Pada studi *molecular docking* didapatkan beberapa senyawa pada daun *Coelogyne* yaitu senyawa *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol* yang menunjukkan afinitas pengikatan dengan enzim target yaitu Gyrase (1KZN), Transpeptidase (6NTW), Muramil Ligase (1E8C), dan Dihidropteroat Sintase (5V7A) . Senyawa tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat protein sehingga

berpotensi dijadikan sebagai anti bakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Hossen *et al.,* (2024), Studi *molecular docking* mengidentifikasi delapan senyawa terpilih terbaik, di antaranya {*androstan-17-on, oxime, (5.alpha.)-}, diethofencarb, tetraconazole, {3,6-dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran*}, dan *geranyl asetat* menunjukkan afinitas pengikatan yang signifikan dengan interaksi pengikatan terbaik dengan enzim target. Hal ini menunjukkan bahwa pengikatan dengan protein spesifik ini dapat mengarah pada mekanisme kerja aksi antibakteri yang dievaluasi. Sebagai kesimpulan, studi saat ini berkontribusi pada pengembangan pengetahuan tentang agen antimikroba alami dan dapat memiliki implikasi signifikan untuk pengembangan agen antibakteri yang baru dan efektif.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 – Maret 2025 (**Lampiran 1**). Survey dan Koleksi sampel *Coelogyne* dilakukan di Kebun Raya Liwa, Lampung Barat. Analisis karakter morfologi dan anatomi dilakukan di Laboratorium Biomolekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Analisis molekuler meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, dan elektroforesis dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Hama dan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Selanjutnya hasil sekuensing dikirim ke perusahaan 1st *Base Company* Malaysia melalui jasa PT Genetika Science Indonesia. Sedangkan Studi *In Silico* dengan *Molecular Docking* dilakukan di Laboratorium Komputasi Dasar, Jurusan Ilmu Komputer, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Penelitian ini terbagi menjadi 3 tahapan, yaitu koleksi sampel *Coelogyne,* karakterisasi dan identifikasi sampel *Coelogyne*¸dan Studi *in silico* dengan *molecular docking.* Alat yang digunakan dalam tahapan koleksi sampel *Coelogyne* adalah *ice box*, gunting, alat tulis, kamera, plastik klip, kertas label, dan amplop cokelat.

Pada tahapan karakterisasi dan identifikasi sampel *Coelogyne* menggunakan *refrigerator*, kertas tissue, *aluminium foil*, neraca analitik, mortar dan pestel, mikropipet 0,5 µl- 10 µl, mikropipet 10 µl-100 µl, mikropipet 100 µl-1000 µl, pipet tip (blue tip, yellow tip, white tip), tabung mikrosentrifus, tube (1,5 ml dan 0,2 ml), mesin *centrifuge*, *vortex, rotamixer*, waterbath, gelas ukur 20 ml, Erlenmeyer 100 ml, microwave, gloves, kotak kecil agar elektroforesis, sisir kecil agar elektroforesis, cetakan kecil agar elektroforesis, mesin PCR, freezer, *gel doc*, *spin down centrifuge*, parafilm, perangkat lunak program MEGA V.11.0.11,

Sedangkan tahapan studi *in silico* dengan *molecular docking* menggunakan situs PubChem, Situs SwissAdme, Situs RCSB, Situs Swiss Model, Perangkat Lunak PyMOL, Perangkat Lunak Pyrx berbasis Autodock Vina, Open Babel 2.4.1, dan *Discovery Studio Visualizer.*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun *Coelogyne,* Alkohol 70%, Aquades Steril, Buffer *Tris-Acetate EDTA* (TAE) 1x, CTAB, Buffer Jamur, Isopropanol, *Phenol, Chloroform, Isoamyl Alcohol* (PCI), *Chloroform, Isoamyl Alcohol* (CI), DNA Ladder 1 kb (Geneaid), Gel Agarose Konsentrasi 1% (Vivantis), GelRedTM Nucleic Acid 10,000x In Water (Biotium), Klorofom, PCR Mix MayTaqTM HS Red (Meridian Bioscience), serta Primer ITS1 (Forward) dan ITS2 (Reverse), Senyawa *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol* dengan 4 protein yaitu Gyrase (1KZN), Transpeptidase (6NTW), Muramil Ligase (1E8C), dan Dihidropteroat Sintase (5V7A).

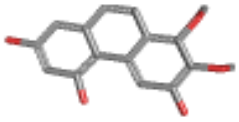
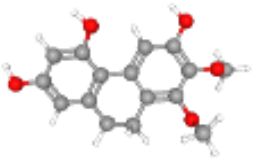
Berikut merupakan sekuens spesifik primer untuk amplifikasi PCR ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Sekuens Primer Spesifik Untuk Amplifikasi PCR (Wiland-szymańska *et al.*, 2016)

No	**Primer**	***Sequence (5'-3')***	***Annealing temp* (^{o}C)**
1	ITS1- F	CGGATATCTTGGCTCTTG	45^{o}C
2	ITS2- R	CCGCTTAGTGATATGCTTA	45^{o}C

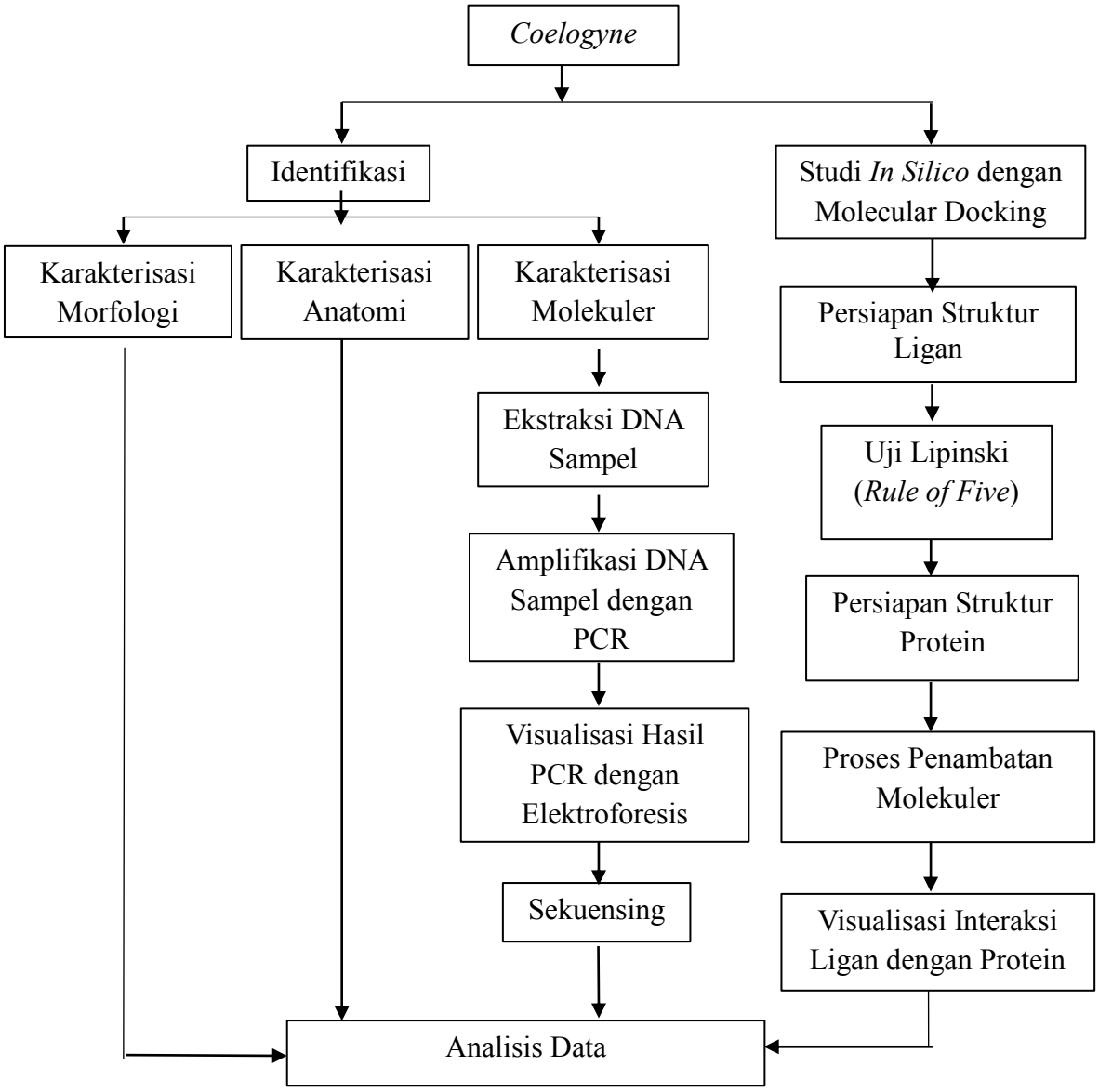
Berikut merupakan bentuk 3 Dimensi dan Kode SMILES dari Senyawa *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol* disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Struktur 3 Dimensi dan Kode SMILES

Nama Senyawa	Struktur 3 Dimensi	Kode SMILES
7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol		COC1=C2C=CC3=CC(=CC(=C3C2=CC(=C1OC)O)O)O
7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol		COC1=C2CCC3=C(C2=CC(=C1OC)O)C(=CC(=C3)O)O

3.3. Rancangan Penelitian

Secara ringkas, rancangan penelitian ditampilkan pada **Gambar 2** di bawah ini.



Gambar 2. Diagram Alir Rancangan Penelitian

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Preparasi Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini berupa 6 sampel daun *Coelogyne* yang dilakukan di Kebun Raya Liwa, Lampung Barat. Daun tanaman diambil sekitar 1-2 helai kemudian dimasukkan ke dalam amplop, dibungkus dengan kantung plastik dan disimpan dalam *ice box*. Selanjutnya, sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan analisis.

3.4.2. Karakter Morfologi

Penelitian ini menggunakan metode pengamatan langsung mengamati bagian-bagian tanaman secara kuantitatif menggunakan Panduan Karakterisasi Tanaman Hias Anggrek (Balithi, 2007). Data morfologi yang berasal dari masing-masing tanaman anggrek kemudian diolah pada similarity dengan menggunakan metode matriks similaritas *Similarity of Interval* (SimInt) dengan koefisien kemiripan *Stand*. Metode yang digunakan selanjutnya yaitu *Senquential Hierarchial and Nested Clustering* (SHAN) dengan hasil berdasarkan data matriks yang sudah di input. Analisis pengelompokkan sampel tanaman menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method Arithmatic Average* (UPGMA). Program yang digunakan adalah *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS) versi 2.0. Selanjutnya untuk menentukan karakter kualitatif dan karakter kuantitatif yang berpengaruh pada pengelompokkan antar species digunakan metode Principal Component Analysis (PCA). Hasil dari analisis ini disajikan dalam bentuk dendogram sehingga dapat diketahui keragaman morfologi *Coelogyne* sp. (Hartati *et al*., 2022). Karakter Morfologi Daun *Coelogyne* disajikan dalam Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Karakterisasi Anggrek Berdasarkan Morfologi Daun

No.	Karakter	Keterangan Skor
1	Bentuk Daun	1=berbentuk jarum/2=berbentuk pita/lurus/3=lonjong/4=jorong atau bujur sangkar/5=berbentuk sendok/6=berbentuk lanset atau mata lembing/7=berbentuk lanset sungsang atau kebalikan lanset/8=bulat telur/9=bulat telur sungsang/10=berbentuk sekop/11=berbentuk jantung/12=segitiga/13=berbentuk panah/14=mata tombak
2	Bentuk Ujung Daun	1=lamcip atau menajam keujung/2=meruncing dengan sisi-sisi yang tajam/3=berembang berujung runcing/4=berujung sutih dangkal bertulang runcing/5=tumpul/6=bentuk pepat atau memotong/7=romping atau tumpul bertakik sedikit/8=terkoyak, ujung membelah/9=bergigi tiga/10=bergerigi/11berbentuk sikat/12=berekor
3	Penampang Melintang Daun	1=menggalah/2=zigomorf atau tipe simetri ditekan/3=berlipatan/4=tidak rangkap
4	Susunan Daun	1=tergulung bersama/2=rangkap
5	Bentuk Tepi Daun	1=mengutuh/2=mengombak/3=berliuk/4=menyudut atau bersegi/5=beringgitan/6=terkerkah/7=bergerigi/8=menggergaji/9= benggergaji ganda/10=berjumbai/11=kelijak,seperti bulu mata/12=mengeriting
6	Tekstur Permukaan Daun	1=gundul/2=meroma(tertutup bulu-bulu halus jarang-jarang)/3=memisai(tertutup bulu-bulu panjang yang agak kaku)/4=mengewol/5=menepung/6=berbingkahan(permukaan tidak teratur)7=berkeriput/8=berpapil
7	Simetri Daun	1=simetri/2= tidak simetri
8	Duduk Daun	1=rapat/2=berselang-seling
9	Tipe Pseudobulb Daun	1=jorong/2=mata lembing/3=lurus/4=tidak ada/5=bulat telur
10	Spur Taji	1=ada/2=tidak ada
11	Bentuk Bunga	1=bintang/2=bulat
12	Bentuk Sepal Dorsal	1=bulat telur/2=lembing/3=oval/4=berujung utuh dangkal bertulang runcing/5=lonjong/6=mata lembing
13	Bentuk Ujung Petal	1=lancip/2=berujung tajam/3=meruncing/4=sikat/5=tak punya petal/6=oval/7=lurus
14	Bentuk Petal	1=lurus/2=tak punya petal/3=lancip
15	Letak Lekuk Labelum	1=diujung
16	Posisi Pembungaan	1=pucuk/2=ketiak daun/3=pangkal
17	Jumlah Polinia	1=4/2=2

18	Corak Sepal Dorsal	1=bercorak dan bergaris/2=bercorak/3=merata
19	Corak Sepal Lateral	1=merata/2=bercorak/3=bertepi dan bergaris
20	Corak Petal	1=berbintik/2=bercorak/3=merata
21	Aroma Bunga	1=beraroma/2=tidak beraroma
22	Penampang Melintang Pseudobulb	1=tidak punya pseudobulb/2=bulat/3=oval

3.4.3. Karakter Anatomi

Pengamatan stomata dilakukan dengan membuat sediaan mikroskopis berupa sayatan membujur (paradermal). Pembuatan preparat segar daun dengan teknik replika menggunakan cat kuku transparan. Langkah awal yang dilakukan yaitu mengambil bagian daun, dibersihkan dan direndam beberapa menit menggunakan alkohol 70%, lalu permukaan bawah daun disayat tipis kemudian diletakkan di objek glass. Selanjutnya, diolesi cat kuku transparan, kemudian ditetesi gliserin dan ditutupi dengan cover glass. Lalu, preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x dan preparat di foto menggunakan kamera (Kumar *et al*., 2020).

Karakter anatomi daun yang diamati adalah tipe stomata, lebar bukaan stomata, panjang, dan lebar sel penjaga, kerapatan stomata, dan indeks stomata. Analisis karakter anatomi secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif ditampilkan dalam bentuk tabel penghitungan stomata dan data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif yang didukung oleh dokumentasi foto dan analisis kekerabatan dilakukan dengan menggunakan data anatomis yang dikarakterisasi secara kuantitatif, dengan cara *scoring* dari data kuantitatif menjadi data biner, kemudian dilanjutkan pengelompokan untuk hubungan kekerabatan antar species. Pengelompokan tersebut selanjutnya digambarkan dalam bentuk dendogram dengan menggunakan *Software Multivariate Statistical Package* (MVSP) versi 3.2 dan jarak genetik untuk analisis klaster dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group With Arithmetic*

Average (UPGMA). Penentuan kuantitatif yang berpengaruh pada pengelompokan digunakan analisis *Principal Component Analysis* (PCA) dengan menggunakan *Software Multivariate Statistical Package* (MVSP) versi 3.2.

Adapun rumus perhitungan kerapatan stomata (Suhaimi, 2017) dapat dihitung dengan Persamaan 1.

$$Kerapatan\ Stomata\ (mm^2) = \frac{Rata{-}Rata\ Stomata}{Luas\ Bidang\ Pandang} \quad \text{.....(1)}$$

Untuk mengukur kerapatan stomata, bidang pandang yang digunakan pada perbesaran 400x dengan luas bidang pandang diukur menggunakan rumus pada Persamaan 2.

$$Luas\ Bidang\ Pandang\ (mm^2) = Panjang\ (\mu m)\ x\ Lebar\ (\mu m) \quad \text{.....(2)}$$

Sedangkan rumus perhitungan indeks stomata (Tambaru, 2015) dapat dihitung dengan Persamaan 3.

$$Indeks\ Stomata\ (\mu m) = \frac{Jumlah\ Stomata}{Jumlah\ Sel\ Epidermis + Jumlah\ Stomata}\ x\ 100\% \quad \text{(3)}$$

3.4.4. Identifikasi Molekuler

3.4.4.1. Ekstraksi DNA Sampel

Sampel daun *Coelogyne* diekstraksi untuk diperoleh DNAnya dengan mengikuti protokol dari protokol *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). Sampel tanaman segar ditimbang sebanyak 0,1 gram lalu sampel ditambah dengan 700 µl Buffer dihaluskan dengan mortar dan pestel hingga menjadi halus, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu dingin.

Setelah inkubasi selesai, selanjutnya sampel dihaluskan Kembali selama 15 menit dan ditambahkan 300 µl Buffer. Setelah sampel tersuspensi merata, selanjutnya dimasukkan dalam tube 1,5ml

sebanyak 0,5ml dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400 µl dan di *waterbbath* pada suhu 65°C selama 1 jam. Setelah itu *Phenol, Chloroform, Isoamyl Alcohol* (PCI) ditambahkan sebanyak 500 µl lalu dihomogenkan kemudian disentrifus kembali pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit.

Setelah disentrifus terbagi menjadi dua larutan, larutan atas yang bening diambil sebanyak 600 µl lalu dipindahkan kedalam tabung mikrosentrifus 1,5ml yang baru lalu tambahkan *Chloroform, Isoamyl Alcohol* (CI) sebanyak 600 µl lalu dihomogenkan kemudian disentrifus kembali pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya diambil larutan bagian atasnya sebanyak 400 µl dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5ml yang baru, ditambahkan *Isopropanol* dingin dengan volume 400 µl, dicampur dan dihomogenkan agar merata. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu -20°C selama 20 menit, kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan natan dan supernatannya dibuang.

Natan ditambahkan *Alcohol* 70% sebanyak 500 µl, disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Kemudian supernatan dibuang dan natan yang didapatkan lalu dikering anginkan selama 1-2 hari, selanjutnya natan ditambahkan 20 µl larutan Buffer TE 1x.

3.4.4.2. Uji Kuantitatif Ekstraksi DNA

Pengujian hasil ekstraksi DNA secara kuantitatif mengikuti Putri *et al* (2024). Tahap ini digunakan untuk mendeteksi kemurnian DNA dengan spektrofotometri UV-Vis. Hasil ekstraksi dianalisis menggunakan dua panjang gelombang yang berbeda yaitu pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dan

digunakan blanko sebagai larutan pembanding berupa akuades kemudian akan diperoleh nilai absorbansi. Nilai absorbansi hasil ekstraksi panjang gelombang 260 nm dibandingkan dengan panjang gelombang 280 nm sehingga akan didapatkan rasio Absorbansi λ 260/Absorbansi λ 280.

3.4.4.3. Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Komposisi reaktan PCR untuk satu kali reaksi amplifikasi DNA ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi reaktan PCR untuk satu kali reaksi amplifikasi DNA.

Komponen	Volume
Redmix	12,5 µl
Akuades steril	9,5 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
DNA *template*	1 µl

Dalam proses PCR, DNA template berperan sebagai cetakan untuk melakukan perbanyakan DNA. *Redmix* merupakan campuran yang terdiri dari beberapa komponen penting, yaitu *Taq polymerase* yang berperan sebagai enzim katalis untuk mensintesis untai DNA baru, buffer yang menjaga kestabilan pH dan kondisi agar enzim dapat bekerja secara optimal, serta pewarna merah yang mempermudah visualisasi saat proses berlangsung (Pharwati, 2015).

Proses amplifikasi dilakukan selama 30 siklus mengikuti metode dari *MyTaq*^{TM} *Red Mix Meridian Bioscience* ditampilkan pada **Tabel 5.**

Tabel 5. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR

Tahapan reaksi	Optimasi suhu dan waktu	
Predenaturasi	95^{O}C selama 1 menit	
Denaturasi	95^{O}C selama 15 detik	30 siklus
Annealing	45^{O}C selama 15 detik	
Extention	72^{O}C selama 10 detik	

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams (1990) menggunakan dua primer yaitu ITS *forward-reverse* yang telah dipilih. Komposisi PCR dilakukan pada volume 25 µL yang terdiri dari 12,5 µL Redmix (PCR *master mix*), 1 µL primer ITS *forward* (10 µM), 1 µL primer ITS *reverse* (10 µM), 1 µL DNA template, dan 9,5 µL air bebas nuklease (*nuclease-free water*). Tahapan pertama Predenaturasi dilakukan pada suhu 95°C selama 1 menit, kemudian diikuti 30 siklus yang terjadi pada tahapan Denaturasi, Annealing (Penempelan Primer), dan Elongasi (*Extention*).

3.4.4.4. Visualisasi Hasil PCR dengan Elektroforesis

Hasil sampel yang telah diamplifikasi dengan metode PCR divisualisasikan dengan menggunakan elektroforesis. Visualisasi dilakukan dengan melarutkan 0,1 gr agarosa ke dalam 20 ml buffer *Tris-Borate EDTA* (TBE) kemudian dipanaskan dalam microwave selama ± 1-2 menit sampai larut. Setelah itu, larutan agarosa didinginkan selama 1 menit lalu ditambah 1 µl *Ethidium Bromide* (EtBr) dan dihomogenkan. Selanjutnya larutan dituang ke dalam kotak cetakan agar elektroforesis yang telah diletakkan sisir untuk membuat sumuran dan didiamkan selama ± 45 menit hingga memadat. Setelah memadat, sisir diangkat kemudian agar yang telah memadat dimasukkan ke dalam kotak alat elektroforesis. Sumuran yang terdapat pada agar diisi dengan DNA template sebanyak 3 µl dan dicampur dengan 1 µl loading

dye, kemudian dimasukkan kedalam agar pada setiap sumur. Pada sumur pertama dimasukkan 3 µl marker DNA *ladder* sebagai penanda ukuran DNA agar dapat membandingkan hasil pita DNA. Elektroforesis dilakukan selama 45 menit dengan tegangan 50 V. Elektroforesis dihentikan jika terlihat DNA sudah berada di kotak ketiga dari bawah, kemudian divisualisasikan dengan menggunakan *DigiDoc Imaging System* (*Major Science*).

3.4.4.5. Sekuensing

Hasil PCR dikirim menggunakan jasa PT Genetika Science Indonesia ke *1st Base Company* di Malaysia untuk dilakukan perunutan basa nukleotida (Mahfut *et al.*, 2020).

3.4.5. *Molecular Docking*

3.4.5.1. Persiapan Struktur Ligan

Senyawa (ligand) *7,8-dimithoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol* dan *7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol* yang ada pada situs PubChem didownload bentuk 3D dengan format SDF dan disimpan kode SMILES kedalam notepad untuk mengambil bentuk senyawa pada perangkat lunak SwissAdme.

3.4.5.2. Uji Lipinski (*Rule of Five*)

Aturan Lipinski adalah senyawa dapat dilanjutkan simulasi *docking* apabila (1) berat molekul kurang dari 500 Da, (2) nilai logP kurang dari 5, (3) jumlah donor ikatan hydrogen kurang dari 5, dan (4) jumlah akseptor ikatan hydrogen kurang dari 10.

Kode SMILES yang sudah disiapkan sebelumnya disalin dan diunggah ke laman http://www.swissadme.ch/ untuk dianalisis berdasarkan aturan Lipinski (Lipinski, 2001).

3.4.5.3. Persiapan Struktur Protein

Protein target berupa Gyrase (1KZN), Transpeptidase (6NTW), Muramil Ligase (1E8C), dan Dihidropteroat Sintase (5V7A) masing-masing protein diundah pada laman https://www.rcsb.org/ dan struktur disimpan dalam format FASTA sequences. Kemudian format FASTA tersebut disalin dan dipindahkan ke laman https://swissmodel.expasy.org/ untuk mengambil struktur protein yang terbentuk dan disimpan dalam format .*pdb. (Imanudin *et al*., 2022). Selanjutnya sebelum masuk ke tahap *docking* struktur protein tersebut dihilangkan terlebih dahulu molekul airnya pada perangkat lunak PyMOL.

3.4.5.4. Proses Penambatan Molekul

Prosedur penambatan molekul ligan dan protein dilakukan menggunakan perangkat lunak Pyrx berbasis Autodock Vina, dan Open Babel 2.4.1. Hasil penambatan yang diperoleh berupa *binding affinity (kcal/mol)* dan hasil *docking.*

3.4.5.5. Visualisasi Interaksi Ligan dengan Protein

Analisis docking divisualisasikan menggunakan perangkat PyMOL, dan untuk menggambarkan residu-residu asam amino, proses dilanjutkan dengan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer.

3.5. Analisis Data

Data yang sudah diperoleh dianalisis secara deskriptif naratif pada setiap variabelnya untuk menjelaskan karakter morfologis dan anatomis pada suatu jenis anggrek *Coelogyne.* Data morfologi yang berasal dari masing-masing tanaman anggrek kemudian diolah pada similarity dengan menggunakan metode matriks similaritas *Similarity of Interval* (SimInt). Metode yang digunakan selanjutnya yaitu *Senquential Hierarchial and Nested Clustering* (SHAN) dengan hasil berdasarkan data matriks yang sudah di input. Analisis pengelompokkan sampel tanaman menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method Arithmatic Average* (UPGMA). Program yang digunakan adalah MVSP 3.1A. Hasil dari analisis ini disajikan dalam bentuk dendogram sehingga dapat diketahui keragaman morfologi *Coelogyne* (Hartati *et al*., 2022).

Data karakteristik anatomi juga dilakukan dengan menentukan hubungan kekerabatan tanaman dari *Coelogyne* dilakukan dengan dianalisis menggunakan aplikasi MVSP 3.1A (Arif dan Ratnawati, 2018). Analisis pengelompokkan sampel tanaman menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method Arithmatic Average* (UPGMA). Hasil dari analisis ini disajikan dalam bentuk dendogram sehingga dapat diketahui keragaman anatomi *Coelogyne*.

Data molekuler didapatkan dari hasil sekuen sampel dimasukkan ke dalam BLAST pada NCBI untuk dipilih beberapa isolat yang memiliki kekerabatan yang tinggi dengan sekuen sampel uji sekuen nukleotida. Sekuen sampel uji dan beberapa sekuen yang telah dipilih melalui NCBI tersebut kemudian dilakukan alignment menggunakan Clustal W Alignment BioEdit. Hubungan kekerabatan sampel *Coelogyne* dan beberapa sekuen yang telah dipilih akan divisualisasikan dalam pohon filogenetik menggunakan program MEGA V.11.0.11. Hubungan kekerabatan antar cabang dianalisis menggunakan analisis bootstrap-1000 (Mahfut *et al.,* 2020).

Data molekuler docking didapatkan dengan tahapan struktur ligan yang disiapkan pada situs PubChem dan protein yang sebelumnya disiapkan pada situs RCSB dilakukan tahap molekuler docking menggunakan perangkat lunak Pyrx berbasis Autodock Vina serta Discovery Studio Visualizer sebagai perangkat visualisasi. Pada tahap molekuler docking dianalisis berdasarkan nilai *docking score, binding affinity (kcal/mol),* interaksi asam amino, visualisasi hasil docking dan mengetahui potensi sebagai anti bakteri melalui aturan Uji Lipinski (*Rule of Five*) (Mir *et al.,* 2022).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun Kesimpulan dari penelitian ini yaitu :

1. Hasil karakterisasi morfologi didapatkan bahwa sampel C1, C2, dan C4 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat berdasarkan kesamaan karakteristik pada susunan daun, bentuk daun, dan bentuk ujung daun yang serupa.
2. Hasil karakterisasi anatomi bahwa sampel C3 dan C4 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat berdasarkan pada kesamaan karakteristik pada lebar bukaan stomata, panjang stomata, jumlah stomata dan kerapatan stomata.
3. Hasil identifikasi molekuler sampel C1 dan C5 dengan primer ITS1 dan ITS2 menunjukkan pita DNA spesifik berukuran sekitar ±320 bp. Sampel C1 berkerabat dengan isolat AF281126.1 (*Coelogyne dayana*) dan sampel C5 berkerabat dengan isolat MK356163 (*Coelogyne asperata*).
4. Berdasarkan hasil *docking* didapatkan ikatan yang menunjukkan bahwa senyawa (*7,8-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,4,6-triol dan 7,8-dimethoxyphenanthrene-2,4,6-triol*) dengan 4 protein target (Gyrase B, Transpeptidase, Muramil Ligase, dan Dihidropteroat Sintase) memiliki potensi sebagai anti bakteri berdasarkan nilai *binding affinity,* interaksi ikatan hydrogen dan ikatan asam amino.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakterisasi morfologi, anatomi, identifikasi molekuler dan studi *in silico* dengan *molecular docking* pada *Coelogyne* sebagai upaya untuk program konservasi dan potensinya sebagai anti bakteri. Pengamatan molekuler sebaiknya dapat dilanjutkan dengan menggunakan primer yang lebih banyak dan spesifik sehingga nantinya mendapatkan hasil yang lebih signifikan juga dilakukannya uji toksisitas pada studi *molecular docking* serta diharapkan kedepannya dapat dilakukan uji lanjutan secara *in vivo* dan *in vitro* juga dengan menggunakan lebih banyak ligand dan protein sehingga memiliki informasi yang lebih spesifik mengenai anti bakteri pada jenis *Coelogyne* sp. khususnya yang berada di Kebun Raya Liwa, Lampung Barat, Lampung.

DAFTAR PUSTAKA

Ainiah, J., Rahayu, T., & Hayati, A. 2017. Analisis karakter fenotip beberapa spesies anggrek *Dendrobium*. *Journal of Bioscience -Tropic, 2*(5), 2338–2805. https://doi.org/10.24036/jbt.v2i5.2338.

Akin, H. M. 2000. Analisis Runutan Nukleotida Gen Protein Selubung Dua Strain Peanut Stripe Virus. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, *6*(1), 39-46. https://doi.org/10.22146/jpti.12406.

Alamendah. 2014. Anggrek Hitam Liar Makin Kelam. Available from: *http://alamendah.wordpress.com/2010/01/21/anggrek-hitam-liar-makinkelam/.05.03.2013.*

Ali M.T., Blicharska N., Shilpi J.A. and Seidel V. 2018. Investigation of The Anti-TB Potential of Selected Propolis Constituents Using A Molecular Docking Approach, *Scientific Reports, 8 (1), 1–8.*

Anisa, A., Jaya, A. K., dan Sunarti, S. 2016. Analisis Hidden Markov Model untuk Segmentasi Barisan DNA. *Jurnal Matematika, Statistika dan Komputasi*, *13*(1), 55-65.

Arif, A. dan Ratnawati. 2018. Hubungan Kekerabatan Anggrek Dendrobium Berdasarkan Karakteristik Morfologis Dan Anatomis Daun. *Jurnal Prodi Biologi, 7(4), pp.213-222.*

Ash-Shidiqy, Hasby., Baiq Farhatu Wahidah, dan Nur Hayati. 2018. Karakterisasi Morfologi Anggrek (Orchidaceae) di Hutan Kecamatan Ngaliyan Semarang. *Journal of Biology and Applied Biology, Vol 1, No 2 (2018), 94-98.*

Balithi. 2007. *Panduan Karakteristik Tanaman Hias Anggrek*. Bali Penelitian Tanaman Hias. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.

Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, and Wojciechowski MF. 1995. Campbell CS, Donoghue MJ. The ITS Region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. Ann Missouri Bot *Gard 82(2):247–77.*

Bermawie, N. 2005. *Karakterisasi plasma nutfah tanaman, Pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor.

Bhagavan, N. V. 2002. Nucleid Acid Structure and Properties of DNA. Medical Biochemistry (Edisi Keempat). Academic Press. ISBN: 978-0-12-095440-7.

Brahmantiyo, B., Priyono, P., & Rosartio, R. (2016). Pendugaan Jarak Genetik Kelinci (Hyla, Hycole, Hycolex NZW, Rex, dan Satin) Melalui Analisis Morfometrik (ESTIMATION OF RABBIT GENETIC DISTANCE (HYLA, HYCOLE, HYCOLEXNZW, NZW, REX AND SATIN) THROUGH MORPHOMETRIC ANALYSIS). Jurnal Veteriner, 17(2), 226–234. https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.226.

CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *PNAS, 106(31), 12794-12797. doi: 10.1111/1755-0998.12194.*

Chase, M. W., Cameron, K. M., Barrett, R. L., and Freudenstain, J. V. 2003. DNA Data and Orchidaceae Systematics: A New Phylogenetic Classification. *Journal Orchid Conservation, 1: 69–89.*

Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguson, C., Dann, S. M., & Savidge, T. C. (2016). Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances, 2*(3), e1501240. https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240.

Chen, T. H., Pan S. L., Guh J. H., Liao C.H., Huang, D. Y., Chen C. C and Teng C.M. 2010. Moscatilin induces apoptosis in human colorectal cancer cells: a crucial role of c-Jun NH2-terminal protein kinase activation caused by tubulin depolymerization and DNA damage. *Clin Cancer Res. 14:4250.*

Comber, J.B. 2001. *Orchids of Sumatera*. Kew: The Royal Botanic Gardens.

Cotthem V. 1970. A classification of stomatal types. Bot. *J. Linn. Soc. Vol. 63(3): 235-246.doi:10.1111/j. 10958339.1970. tb02321.x.*

Danong, M. T., Ruma, M. T. L., Nono, K. M., Mauboy, R. S., Boro, T. L., & Etu, E. 2023. Hubungan kekerabatan fenetik jenis-jenis tumbuhan genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae) berdasarkan ciri morfologi. *Floribunda*, *7*(2), 69–80. https://doi.org/10.14203/floribunda.v7i2.3866

Daina, A., Michielin, O., dan Zoete, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7: 42717.

Djaboutou, M. C., Sinha, M. G., Houedjissin, S. S., Cacai, G. H., & Ahanhanzo, C. 2017. Variability and heritability of morphological traits in cotton genotypes. *European Scientific Journal*, *13*(3), 385–397. https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n3p385.

Diantina, S., C. McGill, J. Millner, J. Nadarajan, H.W. Pritchard, and A.C. McCormick. 2020. Comparative seed morphology of tropical and temperate orchid species with different growth habits. *Plants 9:1-11. Doi: 10.3390/plants9020161*.

Eko, P dan T, Tundjung. 2022. Anatomi Paradermal Daun Anggrek *Dendrobium discolor* dan *Phalaenopsis amabilis* secara Kuantitatif dan Deskriptif. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH). Volume 9, Hal. 84-90.*

Enki, D. G., Trendafilov, N. T., & Jolliffe, I. T. 2013. A clustering approach to interpretable principal components. *Journal of Applied Statistics*, *40*(3), 583-599.

Fahn, A. l992, *Anatomi Tumbuhan*, Gramedia, Jakarta.

Fakih, T. M., Putri, N. W. R. P., Marillia, V., Ramadhan, D. S. F., & Darusman, F. 2022. Identifikasi Aktivitas Biologis, Prediksi Toksisitas, dan Molecular Docking Senyawa Jubanine dari Tanaman Bidara Arab sebagai Kandidat Antivirus SARS-CoV-2. *Jurnal Riset Kimia*, *13*(1), 111-121.

Fang, Y. 2016. Geaux dock: accelerating structur-base virtual screening with heterogeneous computing. *Plos One 11:1-29.*

Farikh, F., Mamangkey, N. G. F., Boneka, F. B., Kussen, J. D., & Lumuindong, F. 2022. Multiple alignment and primer design for groups of barnacle organisms and *Amphibalanus amphitrite* as biofouling markers. *Bioscience*, *7*(2), 125392. https://doi.org/10.24036/bsc.v7i2.125392

Fatisa, Y. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (Nephelium Mutabile) Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli Secara in Vitro. *Jurnal Peternakan, 10(1), 12-14.*

Feng, S., Jiang, Y., Wang, S., Jiang, M., Chen, Z., Ying, Q., and Wang, H. 2015. Molecular identification of Dendrobium species (Orchidaceae) based on the DNA barcode ITS2 region and its application for phylogenetic study. *International Journal of Molecular Sciences, 16(9), 21975-21988. Doi:10.3390/ijms160921975*.

Fitrianto, N., Samiyarsih, S., Rohma, A. dan Sasongko, N.D., 2020. Profil Mikromorfologi Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC) Mutan Akibat Iradiasi Sinar Gamma Cobalt-60. PLANTROPICA: *Journal of Agricultural Science, 5(2), pp.95-106.*

Gravendeel, B., Ann Smithson., F.J.W.Slik dan A.Schuiteman. 2004. Epiphytism and Pollinator Specialization. Drivers For Orchid Diversity. *Phil.Trans. R.Soc.London 359: 1523-1535.*

Guedes, I. A., Vasconcelos, A. T. R., and Fernandes, P. A. 2014. Protein-ligand docking in the new millennium. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *11*, 1–13. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2014.11.001

Hajibabaei, M., Singer, G. A. C., Hebert, P. D. N., dan Hickey, D. A. 2007. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics, 23(4), 167-172. doi: 10.1016/j.tig.2007.02.001.*

Hameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., and Bazzaz, B. S. F. 2019. Review on plant antimicrobials: a mechanistic

viewpoint. *Antimicrobial resistance and infection control, 8, 118.* https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6.

Han, J., Zhu, Y., Chen, X., Liao, B., Yao, H., Song, J., Chen, S., and Meng, F. 2013. The short ITS2 Sequence Serves as an Efficient Taxonomic Sequence Tag in Comparison with the Full-length ITS. *BioMed Research International* 741476. https://doi.org/10.1155/2013/741476.

Handayani, T.T dan Pramono, E. 2022. Anatomi Paradermal Daun Anggrek Dendrobium dis-olour dan Phalaenopsis amabilis secara Kuantitatif dan Deskriptif. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati. 9(2):84-90.*

Harahap. 2017. "Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera," J. Anim. Sci. Agron. Panca Budi, vol. 2, no. 2, pp. 1–6.

Hartati, S., dan Darsana, L. 2022. Karakterisasi anggrek alam secara morfologi dalam rangka pelestarian plasma nutfah. *Jurnal Agronomi Indonesia. 43(2): 133-139.*

Hartini and H. Wawaningrum. 2009. Coelogyne spp. dan Cymbidium spp. di Cagar alam Gunung sago, Sumatra Barat. *Seminar Nasional Konservasi Sumber Daya Hayati:Peran Biosistematika. Purwokerto. Hal. 805-810.*

Haryono, K., dan Basuki, B. 2021. Respon varietas tebu unggul baru terhadap pemberian nano silika dan cekaman kekeringan. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, *21*(2), 91-98.

Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., and deWaard, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(1512), 313–321. doi: 10.1098/rspb.2002.2218.*

Hossen, S. M. M., Eva, T. A., Karim, M. S., Mamurat, H., Rahat, M. H. H., & Nipun, T. S. 2024. Antimicrobial potential, GCMS analysis and molecular docking studies of *Coelogyne suaveolens* extracts: Identification of bioactive compounds with mechanism of action. *Biochemistry and Biophysics Reports, 37*, 101648. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2024.101648.

Imanudin, N., Kurniawan, M,F, dan Rohmayanti, T. 2022. Potensi Senyawa Aktif Ekstrak Kayu Manis Padang (*Cinnamomum burmanii*) sebagai Inhibitor Enzim Aldose Reduktase secara Molekuler Docking. *Jurnal Riset Sains dan Teknologi* 6(2): 171-179.

Jamaluddin, A.F.M., Nusrat, A., Parvin, S., Roni, M.Z.K., & Mayda, U. 2015. Antibacterial and Antifungal Activities of Vanilla planifolia Grown in Sher-E-Bangla Agricultural University. *Bangladesh Res. Pub. J, 11(1), 34-39.*

Julisaniah NI, Sulistyowati L, dan Sugiharto AN. 2008. Analisis Kekerabatan Mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan Metode RAPD-PCR dan Isozim. *Jurnal Biodiversitas*, 9(2): 99-102.

Kementan RI. 2014. *Renstra Kementrian Pertanian Pertanian Tahun 2015- 2019*. Kementrian Pertanian Republik Indonesia.

Khairani, N. 2020. *Identifikasi Tipe Stomata pada Tumbuhan Angiospermae di Kampus UIN AR-RANIRY Sebagai Referensi Praktikum Anatomi Tumbuhan.* UIN AR-RANIRY. Banda Aceh.

Kress, W.J., Prince, L.M. & Williams, K.J., 2002, The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data, Ann.J. Bot. 89, 1682-1696.

Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, and Janzen DH. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl Acad Sci U S A ;102(23):8369–74.*

Kress, W. J., & Erickson, D. L. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. *PLoS ONE*, *2*(6), e508. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508.

Kumar, S. 2002. The medicinal plants of Nort-East India. Judhpur, India: Scientific Publishers.Kumar, M. S., Kaur, G., Sandhu, A. K. 2012. Genomic DNA isolation from fungi, algae, plant, bacteria and human blood using CTAB. International Journal of Science and Research, 3(9): 617-618.

Kumar, J. U. S., Ramakrishan, M., Seethapathy, G. S., Krishna, V., Shaanker, R. U., and Ravikanth, G. 2020. DNA barcoding of Momordica species and assessment of adulteration in Momordica herbal products, an anti-diabetic drug. Plant Gene. 22: 100227.

Lipinski, C. A. 2001. *Lead and drug like compounds: the rule of five resolution. Drug Discovery Today: Technologies*. 1(4): 337-341.

Mahfut, M. 2020. *Konsep Konservasi Anggrek Alam Di Kebun Raya Liwa Berbasis Tiga Bidang Ilmu (Biologi, Proteksi Tanaman, Dan Kecerdasan Buatan).* Pusaka Media. Bandar Lampung. 113-133.

Mir, W.R., Bhat, B.A., Rather, M.A., Muzamil, S., Almilaibari, A. Alkhani, M., *and* Mir, M.A. 2022. Molecular docking analysis and evaluation of the antimicrobial properties of the constituents of *Geranium wallichianum* D. Don ex Sweet from Kashmir Himalaya. *Scientific Report Journal*. *12: 12547.*

Miswarti. 2021. Morphology characteristics of orchids species in Bukit Barisan, Bengkulu province. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 653 (1).*

Moorhouse-Gann, R. J., Dunn, J. C., de Vere, N., Goder, M., Cole, N. C., Hipperson, H., & Symondson, W. O. C. 2018. New universal ITS2 primers for high-resolution herbivory analyses using DNA metabarcoding in both tropical and temperate zones. *Scientific Reports*, *8*(1), 8542. https://doi.org/10.1038/s41598-018-26648-2.

Moyroud, E. and Glover, B.J. 2017. The Evolution of Diverse Floral Morphologies. *Current biology. 27 (17): 941–951*.

Murgesan, M. 2005. Floristic diversity and ethnobotanical studies in Vellianigiri Hills, the Western Ghats of Coimbatore district, Tamil Nadu, India. PhD thesis. Bharathiar University, Coimbatore, Tamil Nadu, India.

Nandariyah. 2010. Morphology and RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) based classification of genetic variability of Java Salacca (Salacca zalacca Gaertner. Voss). *J. Biotech. Biodiv. 1:8-13.*

Nei, M., and Kumar, S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.

Ni Kadek DL, Deswiniyanti, Virginia. 2023. Karakter Morfologi Bunga Anggrek Dendrobium Hibribida Hasil Persilangan Tetua Anggrek Spesies *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. Prosiding SINTESA, 5, 427–434.

Palupi A. 2016. Morfologi dan Anatomi Tiga Varietas Bunga Anggrek Dendrobium. *Skripsi.* Institut Agama Islam Negeri Raden Intan Lampung, Lampung.

Parnata, A. S. 2005. *Panduan Budidaya dan Perawatan Anggrek. Agro-media Pustaka*. Jakarta.

Paul, L. C., Suman, A. A., and Sultan, N. 2013. Analisis metodologis metode principal component analysis (PCA). *International Journal of Computational Engineering & Management, 16*(2), 32–38. https://doi.org/10.1109/ICEM.2010.5525023

Pharwati, D. 2015. Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Aplikasinya dalam Bioteknologi. Yogyakarta: Penerbit Biotek Press.

Phosrithong N dan Ungwitayatorm J. 2010. Molecular docking study on anticancer activity of plant-derived natural products. *Medicinal Chemistry Research 19: 817-835.*

Poedjirahajoe, E. 2017. Penggunaan Principal Component Analysis dalam Distribusi Spasial Vegetasi Mangrove di Pantai Utara Pemalang. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, *11*(2), 121–130. https://doi.org/10.22146/jik.24885

Polihito, R. A., Latjompoh, M., & Kandowangko, N. Y. 2022. Hubungan Kekerabatan Fenetik Lima Anggota Familia Araceae. *Biosfer: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 7(2), 128–134. https://doi.org/10.23969/biosfer.v7i2.6120

Prestinaci, F., Pezzotti, P., and Pantosti, A. 2015. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and global health, 109(7), 309–318.* https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030.

Putri, N. K. D. D., Dhimyaty, A., Tabina, S., az Zahrah, A., Miftahurrahman, M., Prayogi, D., ... & Utami, S. L. 2024. Analisis Perbandingan Kualitas dan Kuantitas DNA Hasil

Ekstraksi Dengan Dua Metode Yang Berbeda. In *Prosiding Seminar Nasional Kusuma* (Vol. 2, pp. 448-454).

Renaldi, I. G., & Purwantoro, A. 2022. Analisis Kekerabatan dan Keragaman Dua Puluh Lima Tanaman Sri Rejeki (Aglaonema sp) Berdasarkan Karakter Morfologi. *Vegetalika*, *11*(3), 246-252.

Rohimah, S., Mukarramah, L., Sindiya, V., S., V. Y., K., G. A., & Su'udi, M. 2018. Eksplorasi jenis dan potensi DNA barcode anggrek Thrixspermum secara in silico. *Jurnal Biodjati, 3(2), 50-58. doi: 10.15575/biodjati.v3i2.3409.*

Sabran, M., Krismawati, A., Galingging. 2003. "Eksplorasi dan Karakterisasi Tanaman Anggrek di Kalimantan Tengah". *Buletin Plasma Nutfah.Vol.9 No.1.*

Saputri, F. A., Sari, D. P., and Sari, R. D. 2016. Docking molekular potensi anti diabetes melitus tipe 2 turunan zerumbon sebagai inhibitor aldosa reduktase dengan AutoDock-Vina. *Chimica et Natura Acta, 4*(1), 16–20. https://doi.org/10.24036/cna.v4i1.4961

Sari, M. 2015. Uji bakteriologis dan resistensi antibiotik terhadap bakteri escherichia coli dan shigella sp pada makanan gado-gado di kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. *Laporan Penelitian* Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Sfarif Hidayatullah Jakarta, September, 1–87. http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/3775.

Sari, N., and Wahyuni, S. 2019. Morphological characterization of *Coelogyne* spp for germplasm conservation of orchids. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia, 5*(2), 334–338.

Septiani. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia* coli. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Indonesian *Journal of Fisheris Science and Technology. DOI: https://doi.org/10.14710/ijfst.13.11.1-6.*

Stansfield, I., K. M. Jones, P. Herbert, A. Lewendon, W. V. Shaw, dan M. F. Tuite. 2003. Missense Translation Errors in Saccharomyces cerevisiae. Journal of Molecular Biology. 282:13-24

Su'udi, M., Budyartini, D.W., dan Ramadany. 2022. Dna Barcoding Anggrek *Dendrobium Linearifolium* Teijsm. & Binn. Berdasarkan Penanda Molekuler ITS2. *Jurnal Biologi. 15 (1): 53–61*.

Suhaimi, S. 2017. Influence of lead level (Pb) to stomatal density and chlorophyll content in glodokan (PolyalthialongifoliaSonn) as city shade in Langsa. *Journal of Islamic Science and Technology.3(1):24-26.*

Susantidiana, A. Wijaya, B. Lakitan, M. Surahman. 2005. Identifikasi beberapa aksesi jarak pagar (Jatropha curcas L.) melalui analisis RAPD dan morfologi. *J. Agron. Indonesia 37:167-173.*

Sutopo, L. 2009. *Keanekaragaman dan Pelestarian Anggrek*. Malang: CV Cita Malang.

Sutrisno, I. K., Arundina, I. and Agung Sosiawan, D. 2013. Identifikasi bite marks dengan ekstraksi DNA metode Chelex (Bite marks identification with Chelex methods in DNA extraction), Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi).

Tambaru, E. 2015.Identification of morphological and anatomical characteristics in the Unhas Tamalanrea Makassar campus area. *Journal of Natural and Environmental Science.6(11):35-41*.

Tohari, E. N. 2020. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Anggrek Bulbophyllum dan Apppendicula di Kebun Raya Liwa Kabupaten Lampung Barat. *Laporan Praktik Kerja Lapangan*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

Trott, O., & Olson, A. J. 2010. *AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading*. Journal of Computational Chemistry, 31(2), 455–461. https://doi.org/10.1002/jcc.21334

Wahyudingsih. 2017. Pemanfaatan Anggrek Spesies Kalimantan Tengah Berbasis Kearifan Lokal yang Berpotensi Sebagai Bahan Obat Herbal. Universitas Palangkaraya. *Jurnal Biodjati. Vol 2, No.2.*

Wang, H.Z., Feng S., Lu, J., Shi, N., and Liu, J. 2009. Phylogenetic study and molecular identification of 31 Dendrobium

species using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Scientia Horticulturae. 8 (6): 1-8.*

Wang, S.-L., Viswanath, K. K., Tong, C.-G., An, H.-R., Jang, S., & Chen, F.-C. 2019. Floral Induction and Flower Development of Orchids. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1258. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01258

Wardani, D. 2020. *Hubungan kekerabatan fenetik famili Asteraceae berdasarkan ciri morfologi dan anatomi di kampus UIN Ar-Raniry sebagai media pendukung pembelajaran di SMA Negeri 2 Bukit Kabupaten Bener Meriah* (Doctoral dissertation, UIN AR-RANIRY).

Wiland-szymańska J, Buczkowska K, Drapikowska M, Maślak M, Bączkiewicz A, and Czylok A. 2016. Genetic structure and barcode identification of an endangered orchid species, Liparis loeselii, in Poland. *Syst Biodivers. Jul;14(4):345–54.*

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research, 18(22), 6531–6535.* https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531

Yaseen, M., & Ali, M. 2022. Detection of *Leishmania donovani* using ITS1-RFLP from positive and negative smear samples among clinically reported patients visiting University of Gondar Comprehensive Specialized Hospital. *PMC*. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9797380/

Yulia, N.D. N.S. Russeani. 2008. Studi habitat dan inventarisasi Dendrobium capra J.J Smith di Kabupaten Madiun dan Bojonegoro. *J. Biodiv*. 9: 190-193.

Zhang, F. Wang, and T. Y. Wang. 2011. A simple and effective SuperBuffer for DNA agarose electrophoresis, Gene.

Zulfahmi. 2013. Penanda DNA untuk Analisis Genetik Tanaman. *Jurnal Agroteknologi. 3(2): 41-5*