



JURNAL BIOSAINS

(Journal of Biosciences)

<http://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains>

email : jbiosains@unimed.ac.id



HUBUNGAN KEKERABATAN SPESIES DALAM GENUS *Zanthoxylum* MENGGUNAKAN SEKUEN GEN MATURASE K (*matK*) DNA KLOROPLAS

Johannes Manurung, Hary Prakasa, Ulfa Family Tanjung, Tri Harsono

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Jl. Willem Iskandar, Pasar V, Medan Estate, Medan, 20221, North Sumatera, Indonesia

Email: johannesmanurung1597@gmail.com, haryprakasa425@gmail.com, ulfajamilytjg98@gmail.com, triharsonounimed@gmail.com

ABSTRAK

Genus *Zanthoxylum* merupakan anggota dari suku Rutaceae yang tersebar luas di Asia Tengah dan Amerika Utara. Genus ini memiliki potensi yang sangat besar dalam bidang medis karena dapat menghasilkan minyak esensial serta dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sumber obat. Saat ini penelitian genus *Zanthoxylum* terfokus pada bidang fitokimia. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan spesies dalam genus *Zanthoxylum* menggunakan DNA kloroplas sekuen gen *matK*. Data sekuen gen *matK* diperoleh dari *National Center for Biotechnology*. Sebanyak 22 spesies dari genus *Zanthoxylum* yang berasal dari 13 negara digunakan dalam analisis ini. Data sekuen kemudian dianalisis hubungan kekerabatan dengan menggunakan program MEGA 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah nukleotida pada sekuen *matK* adalah 35,5% (T), 19,6% (C), 26,9% (A), dan 18,0% (G). Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa sekuen gen *matK* pada spesies dalam genus *Zanthoxylum* mengelompok ke dalam satu kelompok dan terpisah dari *outgroup*-nya (*Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*). Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa DNA kloroplas sekuen gen *matK* dapat digunakan untuk mengelompokkan spesies dalam genus *Zanthoxylum* terpisah dari genus lainnya (antar spesies) tetapi kurang dapat memisahkan spesies dalam genus yang sama (intra spesies). Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai informasi awal untuk menganalisis hubungan kekerabatan spesies dalam genus *Zanthoxylum* menggunakan berbagai penanda molekuler.

Kata Kunci: *Zanthoxylum*, DNA Kloroplas, *matK*, Analisis Filogenetik

RELATIONSHIP SPECIES OF SPECIES IN GENUS *Zanthoxylum* USING SEKUEN GEN MATURASE K (*matK*) CHLOROPLAST DNA

ABSTRACT

The genus *Zanthoxylum* is a member of the Rutaceae tribe which is widespread in Central Asia and North America. This genus has enormous potential in the medical field because it can produce essential oils and be used by the community as a source of medicine. Currently the *Zanthoxylum* genus study focuses on phytochemicals. This study aims to analyze the relationship of species kinship in the genus *Zanthoxylum* using chloroplast DNA sequences of *matK* gene. Sequence data of *matK* gene was obtained from National Center for Biotechnology. A total of 22 species of the *Zanthoxylum* genus originating from 13 countries were used in this analysis. The sequence data was then analyzed by using the MEGA 7 program. The results showed that the average number of nucleotides in the *matK* sequence was 35.5% (T), 19.6% (C), 26.9% (A), and 18.0% (G). The results of phylogenetic analysis show that the sequences of the *matK* gene in species within the *Zanthoxylum* genus clumped into one group and separated from their outgroup (*Citrus paradisi* and *Melicope vitiflora*). Based on the results of the study, it can be concluded that the chromosome DNA of the mole genomes of *matK* can be used to group the species within the genus

Zanthoxylum apart from the other (inter-species) but less able to separate species within the same genus (intra-species). The results of this study can be utilized as preliminary information to analyze the relationship of species kinship within the *Zanthoxylum* genus using various molecular markers.

Keyword: *Zanthoxylum*, Chloroplast DNA, *matK*, Phylogenetic Analysis

Pendahuluan

Bioinformatika merupakan cabang ilmu biologi yang lahir seiring dengan berkembang pesatnya ilmu pengetahuan dan teknologi. Bioinformatika merupakan kombinasi dari berbagai disiplin ilmu biologi dan teknologi informasi (Lesk, 2002). Disiplin ilmu yang dimaksud sangat berkaitan dengan *tools* komputasi yang menjadi metode dalam menganalisis data biologi dalam jumlah besar. Menurut Chou (2004), bioinformatika merupakan gabungan dari ilmu biologi, biokimia, matematika, dan komputer dengan memanfaatkan kemajuan teknologi untuk mengolah data biologi berupa sekuen DNA, RNA, dan protein. Perkembangan bioinformatika tidak terlepas dari dukungan tiga organisasi besar yaitu *National Center for Biotechnology* (NCBI), *Data Bank of Japan* (DDBJ), dan *European Bioinformatics Institute* (EBI) (Mathura & Kanguane, 2009). Pada bidang biologi molekuler, bioinformatika merupakan bagian penting dalam analisis data-data biologi khususnya data sekuen DNA maupun informasi genetik lainnya.

Genus *Zanthoxylum* merupakan anggota dari suku Rutaceae. Genus ini merupakan sumber minyak esensial, tanaman obat, dan kuliner serta memiliki kandungan metabolit yang menjadikan sebagai sumber obat (Kumar et al. 2014; Zhang et al. 2014). Genus dapat mengobati berbagai penyakit seperti sakit perut, disentri, sakit gigi, dan menyembuhkan gigitan binatang berbisa (Guo et al, 2011). *Zanthoxylum* tersebar luas di wilayah Asia Tengah dan Amerika Utara (Hartley, 1966).

Saat ini, penelitian genus *Zanthoxylum* terfokus pada bidang fitokimia (Li et al., 2015). Beberapa penelitian menggunakan penanda molekuler seperti RAPD (Putri et al., 2015; Sembiring et al., 2015), ISSR (Deng et al. 2008), AFLP (Gupta & Mandi, 2013) dan SSR (Yoshida et al. 2010) telah dilakukan untuk menganalisis

keragaman genetik diantara spesies dalam genus *Zanthoxylum*. Namun, penelitian tentang hubungan filogenetik dalam genus *Zanthoxylum* masih jarang dilakukan (Feng et al., 2016).

DNA kloroplas merupakan DNA dengan tingkat rekombinasi genetik yang rendah dan berasal dari garis keturunan maternal (Wang et al., 2013). DNA kloroplas telah banyak digunakan dalam studi hubungan kekerabatan berbagai tanaman angiospermae (Jing et al., 2011). Gen kloroplas terdiri dari berbagai gen seperti *trnL-F*, *rbcl*, dan *matK* (Kress & Erickson, 2007). Gen *matK* merupakan gen yang direkomendasikan oleh *The Consortium for the Barcode of Life* (Hollingsworth et al., 2009).

Salah satu spesies dari genus *Zanthoxylum* yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di provinsi Sumatera Utara, Indonesia adalah *Zanthoxylum acanthopodium* DC atau yang dikenal dengan nama Andaliman. Buah dari tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai bumbu khas masakan tradisional suku Batak di Sumatera Utara (Suriawati & Kristanty, 2015). Tanaman ini juga banyak digunakan untuk mengawetkan makanan seperti ikan mentah dan tahu (Parhusip et al., 2007). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan antar genus *Zanthoxylum* menggunakan sekuen *matK* dari berbagai wilayah geografi.

Bahan dan Metode

Penelitian ini memanfaatkan data sekuen *matK* DNA kloroplas pada tanaman dari genus *Zanthoxylum*. Data sekuen diperoleh dari *genebank* penyedia data sekuen NCBI. Sebanyak 22 spesies dari genus *Zanthoxylum* yang berasal dari 13 negara dianalisis hubungan kekerabatannya berdasarkan gen *matK* DNA kloroplas. Analisis ini menggunakan *outgroup* *Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*. Data sekuen yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuen DNA kloroplas gen *matK* yang digunakan dalam penelitian

No	Spesies	Nomor Akses	Asal
1	<i>Zanthoxylum holtzianum</i>	JX518057.1	Afrika Selatan
2	<i>Zanthoxylum capense</i>	JQ025016.1	Afrika Selatan
3	<i>Zanthoxylum leprieurii</i>	JF271006.1	Afrika Selatan
4	<i>Zanthoxylum humile</i>	JF271005.1	Afrika Selatan
5	<i>Zanthoxylum davyi</i>	JX517950.1	Afrika Selatan
6	<i>Zanthoxylum clava-herculis</i>	MF350254.1	Amerika Serikat

7	<i>Zanthoxylum avicennae</i>	HQ415288.1	China
8	<i>Zanthoxylum armatum</i>	KX344556.1	India
9	<i>Zanthoxylum nitidum</i>	AB925028.1	Kamboja
10	<i>Zanthoxylum gillettii</i>	KC627917.1	Kamerun
11	<i>Zanthoxylum fagara</i>	JQ589092.1	Kosta Rika
12	<i>Zanthoxylum melanostictum</i>	JQ589556.1	Kosta Rika
13	<i>Zanthoxylum acuminatum</i>	JQ589550.1	Kosta Rika
14	<i>Zanthoxylum delagoense</i>	KX146326.1	Mozambik
15	<i>Zanthoxylum setulosum</i>	GQ982131.1	Panama
16	<i>Zanthoxylum ekmanii</i>	GQ982130.1	Panama
17	<i>Zanthoxylum punctatum</i>	KJ012828.1	Puerto Rico
18	<i>Zanthoxylum monophyllum</i>	KJ012827.1	Puerto Rico
19	<i>Zanthoxylum flavum</i>	KJ012826.1	Puerto Rico
20	<i>Zanthoxylum brachyacanthum</i>	KM894730.1	Australia
21	<i>Zanthoxylum americanum</i>	EF489101.1	Spainyol
22	<i>Zanthoxylum simulans</i>	EF489100.1	Swiss
23	<i>Citrus x paradisi</i> (outgroup)	JN315360.1	India
24	<i>Melicope glabra</i> (outgroup)	KJ709002.1	Singapore

Sekuen DNA yang telah diperoleh dianalisis menggunakan program MEGA 7 untuk melihat hubungan kekerabatannya. Seluruh sekuen DNA yang diperoleh kemudian di *alignment* menggunakan menu Clustal W pada program MEGA 7 dan kemudian kontruksi pohon filogenetik menggunakan menu pembuatan pohon filogenetik dengan metode *Neighbor-Joining* dan *Maximum Parsimony* pada program MEGA 7.

Hasil dan Pembahasan

Sekuen DNA yang diperoleh dianalisis menggunakan program MEGA 7. Hasil *alignment* menunjukkan bahwa sekuen *matK* pada genus *Zanthoxylum* terdiri dari 865 karakter. Dari data tersebut terdapat 768 karakter konservatif, 25 karakter berpotensi *parsimony informativ*, dan 95 karakter merupakan wilayah variabel. Hasil

alignment juga menunjukkan bahwa adanya *gap* yang disebabkan adanya insersi dan delesi pada urutan basa nitrogen. Hasil *alignment* menunjukkan bahwa spesies pada genus *Zanthoxylum* memiliki tingkat homologi yang tinggi (88,78%) berdasarkan gen *matK* DNA kloroplas.

Rata-rata jumlah nukleotida pada sekuen *matK* adalah 35,5% (T), 19,6% (C), 26,9% (A), dan 18,0% (G). Sekuen ini kaya akan T/A yaitu sebesar 62,4% sedangkan G/C sebesar 37,6% (Tabel 2). Li (1997) menyatakan bahwa komposisi nukleotida yang paling banyak pada daerah nonkoding DNA kloroplas adalah Adenin dan Timin. Di sisi lain, rasio transisi/transversi cukup tinggi (R = 0,85) dimana laju substitusi sebesar 11,51% dan laju transversi 6,75%.

Tabel 2. Variasi komposisi nukleotida pada sekuen *matK* pada Genus *Zanthoxylum*

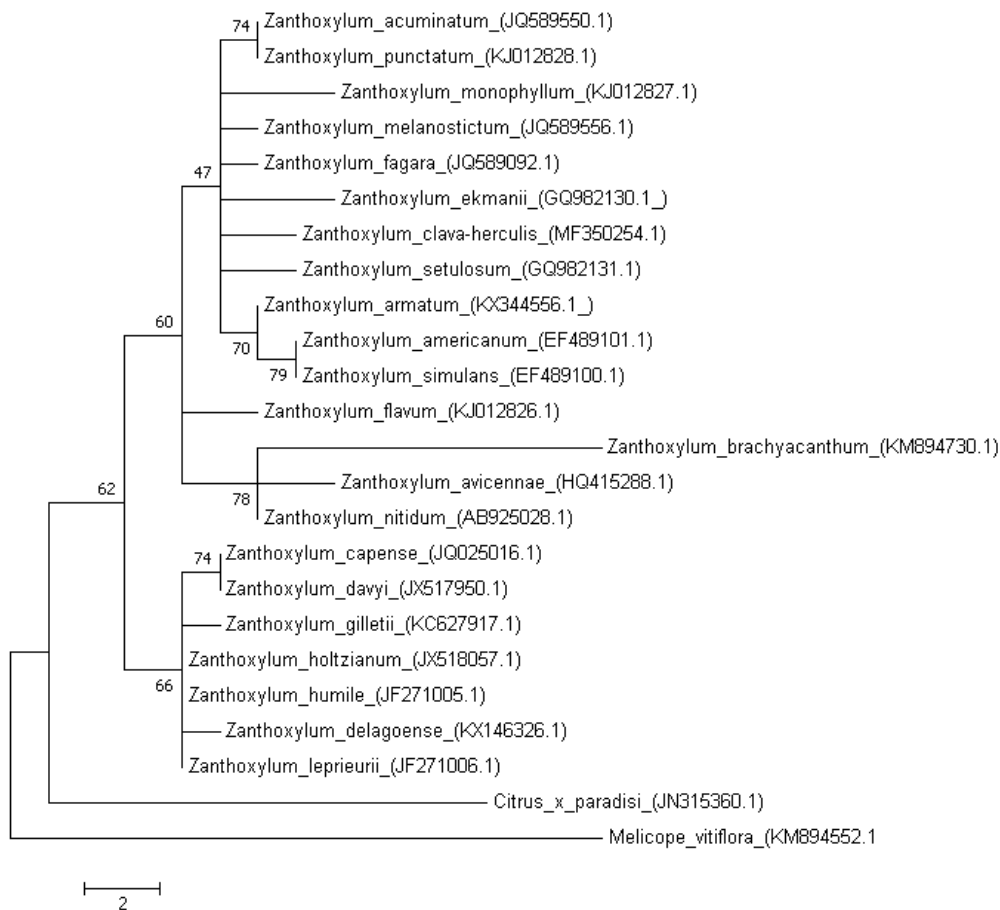
Sekuen genus <i>Zanthoxylum</i>	T	C	A	G	Total	G/C	A/T
<i>Zanthoxylum acuminatum</i> (JQ589550.1)	35.5	19.2	26.9	18.3	698	37.5	62.4
<i>Zanthoxylum americanum</i> (EF489101.1)	34.8	20.1	27	18	859	38.1	61.8
<i>Zanthoxylum armatum</i> (KX344556.1)	34.3	19.5	26	20.2	565	39.7	60.3
<i>Zanthoxylum avicennae</i> (HQ415288.1)	35.3	20.5	26	18.2	828	38.7	61.3
<i>Zanthoxylum brachyacanthum</i> (KM894730.1)	35.2	19.9	27	17.9	559	37.8	62.2
<i>Zanthoxylum capense</i> (JQ025016.1)	34.9	18.9	27.9	18.3	739	37.2	62.8
<i>Zanthoxylum clava-herculis</i> (MF350254.1)	35.6	20.6	25.8	18	822	38.6	61.4
<i>Zanthoxylum davyi</i> (JX517950.1)	35.6	18.9	27.6	17.9	756	36.8	63.2
<i>Zanthoxylum delagoense</i> (KX146326.1)	35.4	20.4	26.5	17.7	804	38.1	61.9
<i>Zanthoxylum ekmanii</i> (GQ982130.1)	37	18.6	27.5	17	625	35.6	64.5
<i>Zanthoxylum fagara</i> (JQ589092.1)	35.4	19.4	27.2	18	772	37.4	62.6
<i>Zanthoxylum flavum</i> (KJ012826.1)	34.8	19.6	26.9	18.6	709	38.2	61.7
<i>Zanthoxylum gillettii</i> (KC627917.1)	37.1	18.6	27.6	16.7	609	35.3	64.7
<i>Zanthoxylum holtzianum</i> (JX518057.1)	35.7	19.1	27.3	17.9	765	37	63
<i>Zanthoxylum humile</i> (JF271005.1)	36	18.4	27.8	17.8	645	36.2	63.8
<i>Zanthoxylum leprieurii</i> (JF271006.1)	36.1	18.8	26.9	18.1	739	36.9	63
<i>Zanthoxylum melanostictum</i> (JQ589556.1)	38	19	27.3	15.7	421	34.7	65.3
<i>Zanthoxylum monophyllum</i> (KJ012827.1)	35.5	20	26.1	18.4	724	38.4	61.6
<i>Zanthoxylum nitidum</i> (AB925028.1)	34.9	20.1	26.9	18.1	840	38.2	61.8

<i>Zanthoxylum punctatum</i> (KJ012828.1)	35.8	19.6	26.4	18.2	731	37.8	62.2
<i>Zanthoxylum setulosum</i> (GQ982131.1)	35.3	20.5	26	18.2	774	38.7	61.3
<i>Zanthoxylum simulans</i> (EF489100.1)	34.5	20.5	27	18	840	38.5	61.5
Rata-rata	35.5	19.6	26.9	18	719.3	37.6	62.4

Variasi urutan sekuen yang berbeda pada *cpDNA* umumnya disebabkan oleh mutasi nukleotida tunggal yang merepresentasikan mutasi yang terjadi pada jangka waktu yang sangat lama (Fitmawati & Hartana, 2010). Gen *matK* merupakan gen yang mengekspresikan ezim maturase sub-unit K yang terdapat pada genom kloroplas tanaman dengan urutan sekitar 1500 pb (Soltis et al., 1998). Gen *matK* merupakan gen kloroplas yang diwariskan secara maternal sehingga hubungan kekerabatan genetik genus *Zanthoxylum* pada penelitian ini dapat tercermin terhadap tetua betinanya. Perbedaan panjang sekuen *matK* terjadi akibat adanya mutasi pada

wilayah tertentu, meskipun perubahan yang terjadi pada DNA kloroplas sangat kecil dibandingkan dengan genom inti, tetapi informasi yang diberikan dari perubahan ini menggambarkan proses evolusi karena *cpDNA* diwariskan secara maternal dan perubahan yang kecil pada genom ini membutuhkan waktu yang sangat lama (Hancock, 2003).

Pohon filogenetik disajikan dan dibangun dengan metode *Maximum Parsimony* (Gambar 1) dan *Neighbour Joining* (Gambar 2) dengan 1000x bootstrap untuk melihat dan menganalisis similaritas antar sampel.



Gambar 1. Pohon filogenetik sekuen *matK* dari spesies dalam genus *Zanthoxylum* dan *outgroup* (*Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*) hasil rekonstruksi dengan menggunakan metode *Maximum parsimony*.

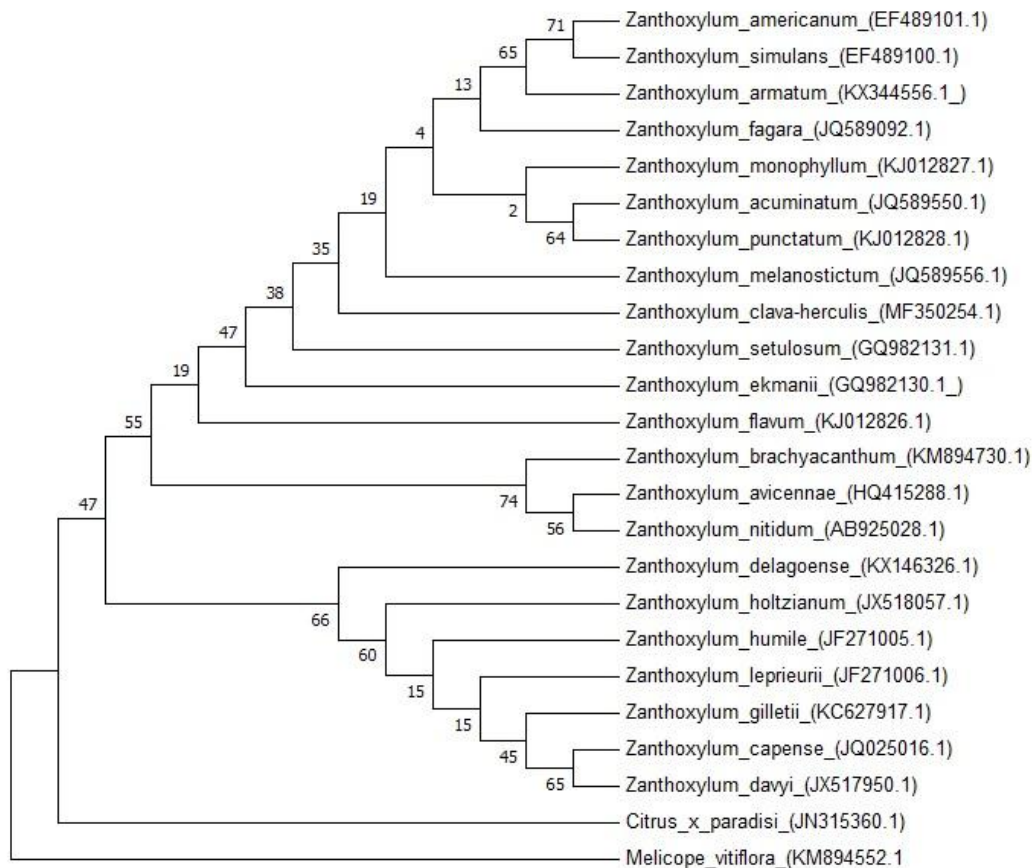
Berdasarkan analisis *Maximum Parsimony* pada Gambar 1, *Z. branchyacanthum* merupakan aksesi dengan cabang terpanjang dan muncul lebih awal sehingga diduga *Z. branchyacanthum* sebagai

tetua dari spesies dalam genus *Zanthoxylum*. Analisis pohon filogenetik mengungkapkan informasi penting tentang leluhur tanaman *Zanthoxylum*. Aksesi yang termasuk ke dalam

kelompok genus *Zanthoxylum* terpisah dari kelompok *outgroup* berupa *Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*. Pemisahan ini menunjukkan bahwa sekuen *matK* DNA kloroplas yang digunakan mampu mengelompokkan spesies dalam genus *Zanthoxylum*.

Pohon dalam kelompok yang dihasilkan merupakan pohon monofiletik dengan 2 kelompok utama. Kelompok pertama merupakan kelompok yang terdiri spesies dalam genus *Zanthoxylum* dan kelompok kedua merupakan *outgroup* yang

digunakan dalam analisis. Keunikan cabang-cabang yang terbentuk dari spesies dalam genus *Zanthoxylum* disebabkan oleh perbedaan letak geografi aksesori yang digunakan serta terbentuknya relung ekologi yang berbeda dan spesifik sehingga memungkinkan terjadinya perubahan yang signifikan pada sekuen basa nukleotida *matK* DNA kloroplasnya. [Taberlet et al. \(1991\)](#) menyatakan bahwa DNA kloroplas baik digunakan dalam analisis kekerabatan antar spesies namun belum dapat memisahkan kekerabatan intraspesies.



Gambar 2. Pohon filogenetik sekuen *matK* dari spesies dalam genus *Zanthoxylum* dan *outgroup* (*Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*) hasil rekonstruksi dengan menggunakan metode *Neighbor-joining*.

Pengelompokan yang dihasilkan oleh analisis *Neighbor-joining* sama dengan pengelompokan yang dihasilkan dengan analisis *Maximum Parsimony*. Hal ini menunjukkan bahwa DNA kloroplas sekuen *matK* dapat digunakan untuk mengelompokkan antar spesies dalam genus *Zanthoxylum* tetapi kurang dapat mengelompokkan genus *Zanthoxylum* intra

spesies. Diperlukan kombinasi penanda untuk dapat mengelompokkan spesies dalam genus *Zanthoxylum* ke dalam kelompok yang terpisah. Sekuen *matK* dapat membedakan genus *Zanthoxylum* dari genus lainnya yang digunakan sebagai *outgroup* (*Citrus paradisi* dan *Melicope vitiflora*).

Tabel 3. Koefisien jarak genetik spesies dalam genus *Zanthoxylum* berdasarkan DNA Kloroplas sekuen *matK*

	Za1	Za2	Za3	Za4	Za5	Za6	Za7	Za8	Za9	Za1 0	Za1 1	Za1 2	Za1 3	Za1 4	Za1 5	Za1 6	Za1 7	Za1 8	Za1 9	Za2 0	Za2 1
Za1	0.00																				
Za2	9	0.00																			
Za3	6	3	0.00																		
Za4	9	2	9	0.01																	
Za5	8	1	8	5	0.03																
Za6	9	2	9	5	8	0.01															
Za7	9	2	9	2	1	2	0.00														
Za8	9	2	9	5	8	0	2	0.01													
Za9	9	2	9	5	8	6	2	6	0.01												
Za1 0	2	6	2	5	4	9	5	9	9	0.01											
Za1 1	6	9	6	9	8	9	9	9	9	2	0.01										
Za1 2	2	5	2	9	1	9	5	9	9	9	2	0.01									

Tabel 3 menunjukkan jarak genetik antar spesies dalam genus *Zanthoxylum*. Jarak genetik tertinggi terdapat pada *Zanthoxylum brachyacanthum* dengan rata-rata jarak genetik 0,042 (4,2%) terhadap spesies lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa *Z. brachyacanthum* memiliki karakter sekuen *matK* paling unik diantara spesies dalam genus *Zanthoxylum* lainnya. Jarak genetik tertinggi adalah 0,48 terdapat pada *Z. brachyacanthum* dengan *Z. capense*, *Z. davayi*, *Z. delagoense*, dan *Z. gillettii*. Pengelompokan spesies genus *Zanthoxylum* tidak dipengaruhi oleh pengelompokan geografis. Hal ini ditunjukkan dengan pohon filogenetik yang secara acak menempatkan setiap spesies pada cabang pohon filogenetik.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Sebanyak 22 aksesi spesies pada genus *Zanthoxylum* bersama-sama membentuk satu cabang utama dan tidak terkelompok secara geografis. *Zanthoxylum brachyacanthum* asal Australia memiliki ruas terpanjang dan diduga sebagai nenek moyang bersama dari spesies dalam genus *Zanthoxylum*. *Zanthoxylum brachyacanthum* juga merupakan spesies dengan rata-rata jarak genetik yang paling tinggi (4,2%) terhadap spesies lainnya. DNA kloroplas sekuen gen *matK* dapat digunakan sebagai DNA *barcoding* untuk spesies dalam genus *Zanthoxylum*.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Kementerian Riset Teknologi Dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia dalam skema pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa - Penelitian.

Daftar Pustaka

Chou, K. C. (2004). Structural bioinformatics and its impact to biomedical science. *Current medicinal chemistry*, 11(16), 2105-2134.

Deng HP, Xu J, Chen F, Song QZ (2008) Morphological and molecular identification on genetic diversity of *Zanthoxylum armatum* var. *novemfolius*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* 10:2103–2109

Feng, S., Yang, T., Liu, Z., Chen, L., Hou, N., Wang, Y., & Wei, A. (2015). Genetic diversity and

relationships of wild and cultivated *Zanthoxylum* germplasms based on sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62(8), 1193-1204.

- Fitmawati, Hartana A. (2010). Phylogenetic Study of *Mangifera laurina* and its Related Species Using cpDNA trnL-F Spacer Markers. *Hayati Journal of Biosciences* Vol. 17, No. 1, 9-14
- Guo T, Deng YX, Xie H, Yao CY, Cai CC, Pan S, Wang YL (2011) Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethyl acetate fraction from *Zanthoxylum armatum* in mice. *Fitoterapia* 82:347–351
- Gupta, D. D., & Mandi, S. S. (2013). Species specific AFLP markers for authentication of *Zanthoxylum acanthopodium* & *Zanthoxylum oxyphyllum*. *J. Med. Plants*, 1(6), 1-9.
- Hancock JF. (2003). *Plant Evolution and The Origin of Crop Species*. Second Edition. CABI Publishing. CAB International. Wallingford. UK
- Hartley TG. (1966). A revision of the Malesian species of *Zanthoxylum* (Rutaceae). *J. Arnold Arboretum*. 47:171-221.
- Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham S, van der Bank M, Chase MW, Cowan RS, Erickson DL, Fazekas AJ (2009) A DNA barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:12794–12797
- Jing, Y. U., Jian-Hua, X. U. E., & Shi-Liang, Z. H. O. U. (2011). New universal *matK* primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution*, 49(3), 176-181.
- Kress WJ, Erickson DL. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcl* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PloSONE*. 2(6): 508-513
- Kumar V, Kumar S, Singh B, Kumar N (2014) Quantitative and structural analysis of amides and lignans in *Zanthoxylum armatum* by UPLC/DAD-ESI-QTOF-MS/MS. *J Pharmaceut Biomed* 94:23–29
- Lesk, Arthur M. (2002). *Introduction to Bioinformatics*. Oxford: Oxford University Press.
- Li J, Hui T, Wang F, Li S, Cui B, Cui Y, Peng Z (2015) Chinese red pepper (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) leaf extract as natural antioxidants in salted silver carp

- (Hypophthalmichthys molitrix) in dorsal and ventral muscles during processing. *Food Control* 56:9–17
- Li WH. (1997). *Molecular Evolution*. Sinauer & Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Mathura, V. S. and P. Kanguane, (2009). *Bioinformatics A concept-Based Introduction Biological Sequence Databases*. Springer Science & Business Media. Verlag-Berlin-Heidelberg, pp: 39-43
- Parhusip, A.J.N., P. Sibuea dan A. Tarigan. (1999). Studi Tentang Aktivitas Antimikroba Alami pada Andaliman. Seminar Nasional Teknologi Pangan Jakarta (ID).
- Putri, L. A., Sinaga, A. O., Sembiring, I. M., & Sinaga, A. (2016). Assessing genetic diversity of Indonesian Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) germplasm based on 7 RAPD markers. In *Proceeding International Conference on Global Resource Conservation* (Vol. 6, No. 1).
- Sembiring, I. M. S., Putri, L. A. P., & Setiando, H. (2015). Aplikasi Penanda Lima Primer RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) untuk Analisis Keragaman Genetik Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) Sumatera Utara. *Jurnal Agroekoteknologi*. E-ISSN No, 2337, 6597.
- Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ. (1998). *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing*. Boston, Amerika Serikat (US): Kluwer Academic.
- Suriawati, J. dan Kristanty, RE. (2015). The Indonesian *Zanthoxylum acanthopodium* DC. : Chemical and Biological Values. *International Journal of PharmTech Research* Vol. 8, No. 6: 313-321
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, and Bouvet J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109
- Wang JF, Gong X, Chiang YC, Kuroda C (2013) Phylogenetic patterns and disjunct distribution in *Ligularia hodgsonii* Hook. (Asteraceae). *J Biogeogr* 40:1741–1754
- Yoshida T, Nagai H, Yahara T, Tachida H (2010) Genetic structure and putative selective sweep in the pioneer tree, *Zanthoxylum ailanthoides*. *J Plant Res* 123:607–616
- Zhang Y, Wang D, Yang L, Zhou D, Zhang J (2014). Purification and characterization of flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and correlation between their structure and antioxidant activity. *Plos One* 9, e105725. doi:10.5710.101371/journal.pone. 0105725.