

Studi *In Silico* DNA barcoding pada bunga soka (*Ixora*)

ALIFAH NUR ANZANI¹, IRFAN MARTIANSYAH², NIA YULIANI³

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa
Jl. KH Sholeh Iskandar KM. 4 Bogor, Indonesia. 16166
Email: alifahanzani36@gmail.com

²Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-LIPI
Jl. Ir. H. Juanda No.13 Bogor, Indonesia. 16122
Email: imartiansyah6311@gmail.com

³Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa
Jl. KH Sholeh Iskandar KM. 4 Bogor, Indonesia. 16166
Email: niayuliani0412@gmail.com

ABSTRACT

Ixora is a genus of plants in the Rubiaceae family. It has more than 500 species and is distributed in tropical areas of Asia and Africa, especially in Southeast Asia. *Ixora*, a named Soka flower in Indonesia, is well-known as an ornamental plant. It has beautiful flowers shape and variations of colors. DNA barcoding research on *Ixora* plants has not been widely carried out. Therefore an initial study is needed that aims to analyze the *Ixora* kinship using *rbcL*, *trnL*, and *matK* gene sequences. An *in silico* study of DNA barcoding of *Ixora* utilizes Genbank (NCBI). DNA sequences were collected from the NCBI database by searching for the species name and the genes used. The data were analyzed using CLUSTAL W to determine the level of homology between sequences through sequence alignment, sequence identification, and phylogenetic tree reconstruction using MEGA X. The results of the *in silico* study showed that alignment using the *trnL*, *matK*, and *rbcL* genes was relatively similar at the same level of homology. However, the *rbcL* gene provides an informative description of the topology of the molecular kinship tree of *Ixora* at the species level compared to the *trnL* and *matK*. In addition, the *rbcL* gene is known to show specific characters of *Ixora*. So, *rbcL* can be used as a potential barcode to identify *Ixora* species through a molecular approach at the Bogor Botanical Gardens.

Keywords: DNA barcoding; *in silico*; *Ixora*

INTISARI

Ixora merupakan genus tumbuhan dari famili Rubiaceae yang memiliki lebih dari 500 spesies. Genus ini, tersebar di area tropis Asia dan Afrika dengan keragaman terbesar tersebar di Asia Tenggara. Di Indonesia, *Ixora* dinamakan juga bunga Soka dan populer sebagai tanaman hias. Bunga Soka memiliki bentuk yang menarik dan warna bunga yang bervariasi. Penelitian DNA barcoding mengenai tumbuhan *Ixora* belum banyak dilakukan, oleh karena itu diperlukan studi awal yang bertujuan menganalisis kekerabatan *Ixora* dengan menggunakan sekuen gen *rbcL*, *trnL*, dan *matK* berbasis *in silico*. Metode yang dilakukan dalam DNA barcoding bunga Soka *Ixora* adalah dengan studi *in silico* menggunakan Genbank (NCBI). Sekuen DNA dikoleksi dari basis data NCBI dengan mencari nama spesies dan gen yang digunakan yaitu *matK*, *rbcL*, dan *trnL*. Selanjutnya data dianalisis menggunakan CLUSTAL W untuk menentukan tingkat homologi antar sekuen melalui penjajaran sekuen, identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai barcode, dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan MEGA X. Hasil studi *in silico* menunjukkan bahwa penjajaran dengan menggunakan lokus *trnL*, *matK* dan *rbcL* memiliki tingkat homologi yang relatif tinggi. Akan tetapi, gen *rbcL* memberikan gambaran yang informatif mengenai topologi pohon kekerabatan molekuler dari *Ixora* pada tingkat spesies dibandingkan dengan gen *trnL* dan gen *matK*. Selain itu, gen *rbcL* diketahui dapat memperlihatkan karakter spesifik dari *Ixora* sehingga diduga dapat dijadikan sebagai barcode untuk mengidentifikasi spesies-spesies *Ixora* di Kebun Raya Bogor melalui pendekatan molekuler.

Kata kunci: DNA barcoding; *in silico*; *Ixora*

PENDAHULUAN

Ixora merupakan salah satu genus tumbuhan dari famili Rubiaceae yang memiliki lebih dari 500 spesies (Mouly *et al.*, 2009).

Genus ini, tersebar di area tropis Asia dan Afrika dengan keragaman terbesar tersebar di Asia Tenggara (Tosh *et al.*, 2013). Tumbuhan yang termasuk ke dalam genus *Ixora* umumnya

berbentuk pohon atau semak yang berbunga. Perbungaannya terletak pada ujung batang utama (terminal) (Davis *et al.*, 2009). Sebagian besar jenis dari genus *Ixora* dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Hal ini disebabkan karena Soka memiliki bunga yang menarik dengan warna yang bervariasi seperti merah, kuning, oranye, merah jambu, merah muda, putih dan salem (Jhariya, *et al.*, 2013). Selain sebagai tanaman hias, beberapa jenis *Ixora* dapat diambil daun dan batangnya sebagai obat tradisional (Jaiswal *et al.*, 2014).

Kebun Raya Bogor (KRB) telah berhasil mengonservasi lebih dari 20 jenis *Ixora* yang berasal pulau Jawa, Sumatra, Sulawesi, Kalimantan hingga Papua (Ariati *et al.* 2019). Koleksi *Ixora* KRB tersebar di beberapa lokasi penanaman (*Vak*), antara lain *Ixora akkeringae*, *I. barbata*, *I. chinensis*, *I. coccinea*, *I. coccinea* L. var *grandiflora*, *I. coccinea* L. var *monstruosa*, *I. finlaysoniana*, *I. grandifolia*, *I. javanica*, *I. keyensis*, *I. kurziana*, *I. lanceolata*, *I. macrothyrsa*, *I. opaca*, *I. paludosa*, *I. parviflora*, *I. philippinensis*, *I. pseudojavanica*, *I. salicifolia*, *I. siamensis*, *I. valetonia* dan *Ixora* sp (Ariati *et al.* 2019).

Beberapa di antara jenis *Ixora* yang dikoleksi KRB masih ada yang belum teridentifikasi hingga jenis. Hal ini membutuhkan perhatian dari para peneliti di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) sebagai instansi induk KRB untuk mulai melakukan studi awal dalam usaha untuk mengidentifikasi koleksi tersebut. Salah satunya adalah dengan menggunakan pendekatan molekuler melalui studi *in silico* DNA barcoding. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gen-gen atau region DNA barcode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis *Ixora* secara *in silico*.

Sejak tahun 2003, kode batang DNA (*DNA barcode*) telah digunakan secara intensif untuk proses identifikasi suatu organisme (Hebert *et al.*, 2003). *DNA barcode* merupakan sekuen DNA pendek yang telah distandarkan berdasarkan wilayah (*region*) dalam DNA yang dapat secara spesifik mengidentifikasi organisme hingga tingkat spesies (Hebert *et al.*,

2003; Huxley-Jones *et al.* 2012). DNA barcoding memiliki prinsip dasar yaitu identifikasi menggunakan sekuen DNA pendek “barcode” dari bagian standar genom dari spesimen yang sedang diteliti. Urutan *barcode* yang tidak diketahui akan dibandingkan dengan pustaka sekuen barcode yang telah diketahui identitasnya. melalui pemanfaatan data sekuen dari bank gen NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan metode *in silico*, yaitu dengan memanfaatkan data sekuen gen *trnL*, *matK* dan *rbcL* dari beberapa spesies *Ixora* yang terdapat di bank gen NCBI (Tabel 1). Secara umum, penelitian ini meliputi tiga kegiatan utama, yaitu: (1) Pencarian sekuen nukleotida dan analisis homologi (kemiripan); (2) Penjajaran sekuen nukleotida (*multiple sequence alignment*); (3) Analisis keragaman dan kekerabatan genetik *Ixora* yang diperoleh.

1. Pencarian sekuen nukleotida dan analisis homologi

Sekuen DNA ditelusuri dari laman bank gen NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan cara menulis nama spesies disertai gen yang ditargetkan (Contoh: *Ixora matK/trnL/rbcL*). Data-data yang meliputi aksesori, panjang nukleotida disimpan dalam *spreadsheet* di Ms.Excell. Sedangkan susunan nukleotida disimpan dalam format FASTA (*Notepad*) (Hariri *et al.*, 2021).

2. Penjajaran menggunakan CLUSTALW

Seluruh sekuen DNA yang telah dikoleksi dari NCBI diujarkan. Penjajaran sekuen DNA dilakukan dengan menggunakan CLUSTALW dalam piranti lunak MEGA X. Hal ini bertujuan untuk mengetahui tingkat homologi dan identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai *barcode*. Sekuen yang berpotensi sebagai *barcode* adalah sekuen yang berbeda dan khas dibandingkan yang lain.

3. Analisis kekerabatan genetik

Analisis keragaman dan kekerabatan genetik *Ixora* dilakukan menggunakan piranti lunak MEGA X (Kumar *et al.*, 2018). Analisis dilakukan dengan memasukkan seluruh data sekuen yang berada dalam format FASTA

(untuk masing-masing gen yang digunakan) ke dalam format Mega (.meg). Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode *Construct/Test UPGMA Tree* pada MEGA-X (Kumar *et al.*, 2018). Pembuatan pohon filogenetik bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerabatan dari setiap variasi spesies *Ixora* dan melihat laju evolusinya berdasarkan evaluasi dari nilai Bootstrap.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Spesies *Ixora* dengan gen *rbcL*, *trnL*, dan *matK* di bank gen NCBI

Sekuen DNA yang digunakan dalam penelusuran analisis hubungan kekerabatan tumbuhan *Ixora* sp. adalah sekuen DNA kloroplas (cpDNA). Hal ini dikarenakan karena DNA kloroplas (cpDNA) memiliki jumlah dan variasi sekuen yang relatif besar di dalam suatu

organisme tumbuhan. Penelitian dilakukan dengan metode *in silico*, yaitu dengan memanfaatkan data sekuen gen *maturaseK* (*matK*), *ribolusa-1,5-bifosfat carboxilase* (*rbcL*), dan *trnL* dari spesies *Ixora* sp. yang terdapat di *geneBank/NCBI*.

Proses peninjauan sekuen dilakukan untuk mencari sekuen yang mirip, sama atau berbeda yang diperoleh dari laman basis data bank gen NCBI. Selanjutnya, hasil peninjauan sekuen dapat digunakan untuk pembuatan pohon kekerabatan (filogenetik). Spesies *Ixora* yang berhasil diambil dari basis data NCBI berjumlah 22 sekuen untuk gen *rbcL*, 21 sekuen (*trnL*) dan 8 sekuen (*matK*). Sekuen gen *matK* pada spesies *Ixora* memiliki referensi relatif terbatas dengan jumlah spesies yang sedikit sehingga disinyalir kurang representatif digunakan untuk menentukan *barcode*.

Tabel 1. Spesies *Ixora* dengan nomor aksesori dan panjang nukleotida pada tiga gen target

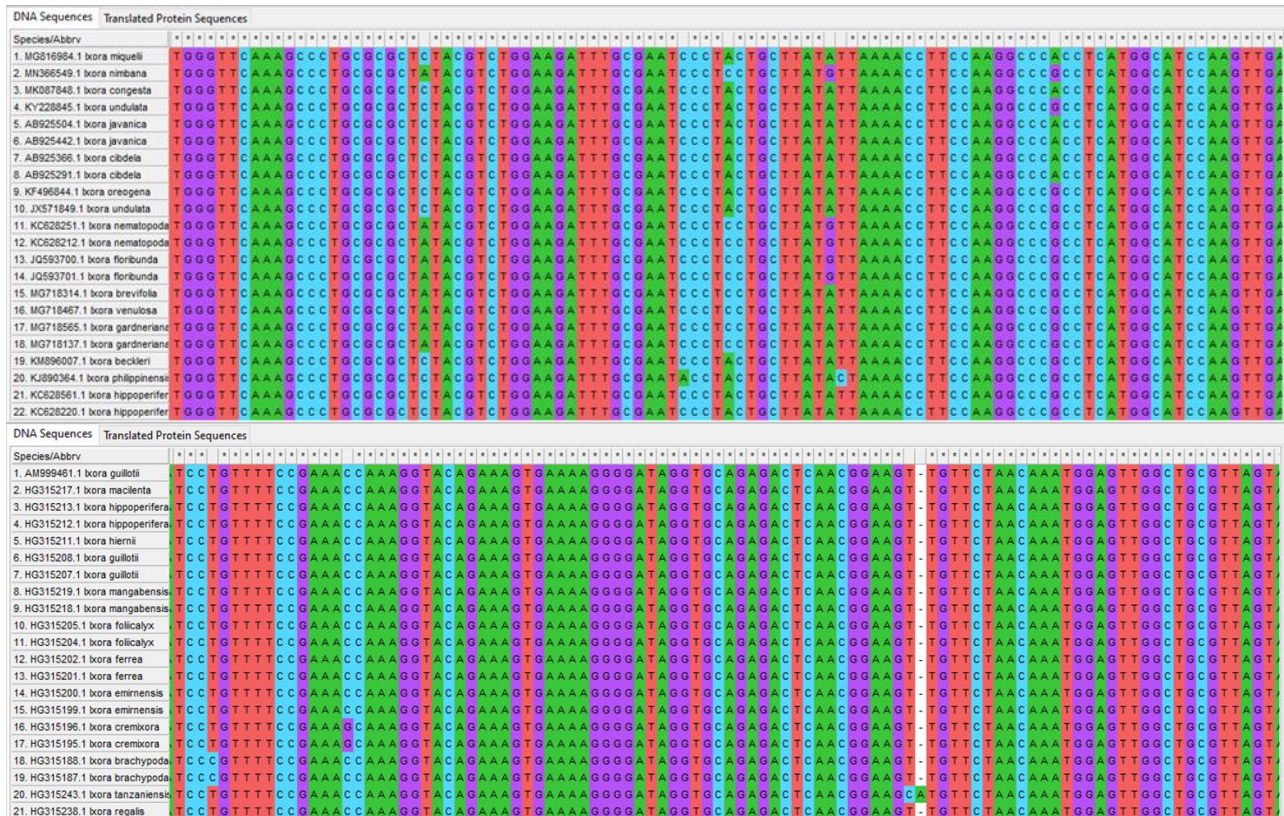
Spesies	Nomor Aksesori			Panjang Nukleotida (bp)		
	<i>rbcL</i>	<i>trnL</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL</i>	<i>matK</i>
<i>Ixora miquelii</i>	MG816984.1			512		
<i>Ixora nimbana</i>	MN366549.1			528		
<i>Ixora congesta</i>	MK087848.1			534		
<i>Ixora javanica</i>	AB925504.1			531		
<i>Ixora javanica</i>	AB925442.1			531		
<i>Ixora cibdela</i>	AB925366.1			531		
<i>Ixora cibdela</i>	AB925291.1			531		
<i>Ixora oreogena</i>	KF496844.1			566		
<i>Ixora nematopoda</i>	KC628251.1		KC627603.1	624		779
<i>Ixora nematopoda</i>	KC628212.1		KC627476.1	622		662
<i>Ixora floribunda</i>	JQ593700.1		JQ588972.1	550		752
<i>Ixora floribunda</i>	JQ593701.1		JQ588971.1	550		773
<i>Ixora venulosa</i>	MG718467.1			620		
<i>Ixora gardneriana</i>	MG718565.1			708		
<i>Ixora gardneriana</i>	MG718137.1			707		
<i>Ixora beckleri</i>	KM896007.1			553		
<i>Ixora philippinensis</i>	KJ890364.1			662		
<i>Ixora hippoperifera</i>	KC628561.1	HG315213.1		706	812	
<i>Ixora hippoperifera</i>	KC628220.1	HG315212.1		623	812	
<i>Ixora undulata</i>	MN366549.1			552		
<i>Ixora undulate</i>	KY228845.1			507		
<i>Ixora breifolia</i>	MG718314.1		MG718841.1	712		753
<i>Ixora guillotii</i>		AM999461.1			871	
<i>Ixora macilenta</i>		HG315217.1			775	
<i>Ixora hiernii</i>		HG315211.1			811	
<i>Ixora guillotii</i>		HG315208.1			803	
<i>Ixora guillotii</i>		HG315207.1			803	
<i>Ixora mangabensis</i>		HG315219.1			811	
<i>Ixora mangabensis</i>		HG315218.1			811	

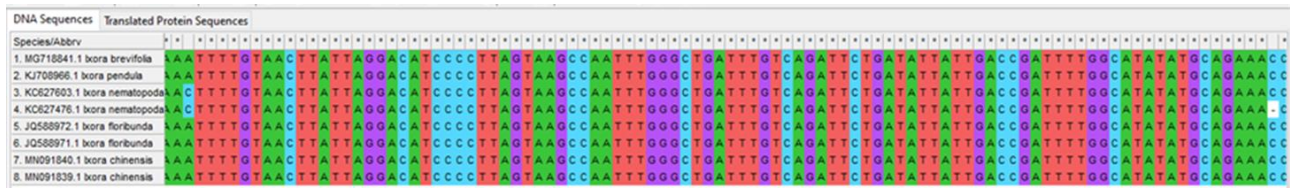
<i>Ixora foliicalyx</i>	HG315205.1	811
<i>Ixora foliicalyx</i>	HG315204.1	811
<i>Ixora ferrea</i>	HG315202.1	811
<i>Ixora ferrea</i>	HG315201.1	811
<i>Ixora emirnensis</i>	HG315200.1	811
<i>Ixora emirnensis</i>	HG315199.1	811
<i>Ixora cremIxora</i>	HG315196.1	811
<i>Ixora cremIxora</i>	HG315195.1	703
<i>Ixora brachypoda</i>	HG315188.1	811
<i>Ixora brachypoda</i>	HG315187.1	811
<i>Ixora tanzaniensis</i>	HG315243.1	812
<i>Ixora regalis</i>	HG315238.1	811
<i>Ixora pendula</i>	KJ708966.1	742
<i>Ixora chinensis</i>	MN091840.1	742
<i>Ixora chinensis</i>	MN091839.1	742

B. Penjajaran sekuen *Ixora* pada gen *rbcL*, *trnL* dan *matK*

Berdasarkan hasil analisis penjajaran sekuen gen *rbcL*, *trnL* dan *matK* dari tumbuhan *Ixora*, terdapat perbedaan urutan basa nukleotida pada Gambar 1. Perbedaan basa nukleotida dimungkinkan dapat terjadi karena adanya mutasi. Mutasi yang terjadi pada sekuen nukleotida dapat diakibatkan oleh pengaruh lingkungan dan aktivitas senyawa mutagenik (Nur & Syahrudin, 2012). Senyawa-senyawa

mutagenik mampu mengubah susunan polimer nukleotida pada DNA, dan menyebabkan kesalahan penerjemahan pada rantai nukleotida tersebut (Lehninger, 1982). Dengan demikian, mutasi merupakan langkah awal dalam pembentukan populasi dasar dan peningkatan keragaman genetik populasi berikutnya. Dengan kata lain, keragaman genetik berfungsi untuk menyediakan populasi dasar untuk seleksi alam dalam evolusi (Maruzy *et al.*, 2020).





Gambar 1. a) Hasil penjajaran menggunakan metode Clustal W pada piranti lunak MEGA X. a) *rbcL*, b) *trnL* c) *matK*. Tanda (*) menunjukkan tingkat homologi, tanda (-) gap menunjukkan insersi dan delesi.

Hasil penjajaran gen *rbcL* menunjukkan adanya sekuen yang sama dengan tingkat homologi yang cukup tinggi. Tingkat homologi yang semakin tinggi menunjukkan semakin dekat kekerabatan antar jenis karena terjadinya mutasi semakin rendah (Priyanto & Setyawan, 2000). Adapun sebagai contoh, terdapat perbedaan basa sekuen nukleotida pada spesies nomor dua dan nomor 19 dengan sebagian besar spesies yang lain. Hal ini diduga dapat menimbulkan variasi genetik sehingga dapat membedakan spesies hingga tingkat jenis.

Penjajaran sekuen pada *Ixora* menggunakan gen *trnL* ditemukan ketidakcocokan (*mismatch*) dalam penjajaran antar spesies yang ditandai adanya kesenjangan (*gap*, tanda "-") diasosiasikan dengan proses insersi atau delesi (de Groot *et al.*, 2011). Sementara gen *non-coding* yaitu gen *trnL* ditemui 21 sekuen dari spesies *Ixora*. Sekuen-sekuen ini diduga kurang berpotensi sebagai barcode karena diketahui memiliki tingkat homologi yang relatif tinggi. Berdasarkan Sekuen gen delapan spesies dari gen *matK* ditemukan adanya gap pada kode tumbuhan KC627476.1. *Gap* mempresentasikan adanya insersi, delesi maupun penyusunan ulang materi genetik dari satu atau lebih karakter sekuen selama evolusi (Dharmayanti, 2011).

Kesamaan antara sekuen dengan studi pustaka yang digunakan menunjukkan bahwa spesimen tersebut disinyalir mirip atau teridentifikasi sebagai spesimen yang sama. Namun jika tidak sesuai, maka diduga dapat teridentifikasi sebagai spesies baru (Hajibabaei, 2006). Identifikasi spesies dengan pendekatan molekuler DNA merupakan metode yang cepat dan konsisten (Irawan *et al.*, 2016). Hal tersebut dikarenakan karakter DNA yang relatif lebih

konstan dibandingkan karakter morfologi (Hidayat, Kusumawaty, *et al.*, 2008). Sekuen DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dari suatu spesies dengan cara mengkonstruksi pohon filogenetik.

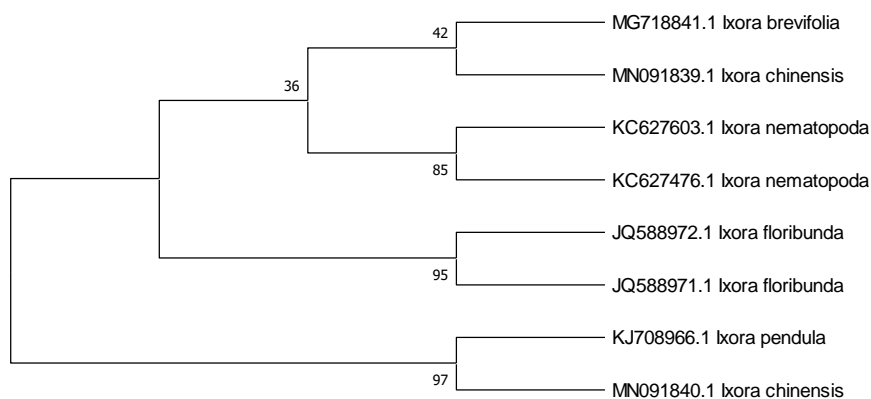
C. Analisis kekerabatan melalui rekonstruksi pohon filogenetik

Pohon filogenetik merupakan suatu gambaran evolusi yang terjadi pada sekelompok makhluk hidup yang berasal dari nenek moyang yang sama (Ochieng *et al.*, 2007). Filogenetik mengkombinasikan teknik biologi molekuler dengan statistik untuk merekonstruksi hubungan filogenetik. Pohon filogenetik banyak digunakan untuk menentukan ortologi dan paralogi dalam pendekatan molekuler (Putranto *et al.*, 2017). Nilai konservasi genetik tanaman sangat penting untuk pengembangan keragaman genetik meskipun melalui kajian *in silico* (Martiansyah *et al.*, 2017; Putranto *et al.*, 2020). Penilaian keragaman genetik dalam populasi yang dapat juga diterapkan menggunakan berbagai penanda molekuler RAPD dan analisis hasil elektroforesis DNA (Martiansyah *et al.*, 2018). Kecepatan evolusi dapat diperkirakan menggunakan sekuen DNA dengan cara mencari perubahan basa nukleotida sehingga dapat merekonstruksi hubungan evolusi antara satu spesies dengan spesies lainnya (Hidayat, *et al.*, 2008). DNA kloroplas mempunyai tingkat evolusi yang rendah sehingga banyak digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies angiospermae. Namun ada keterbatasan dalam mengamati hubungan intraspesifik (Harsono *et al.*, 2015). Sedangkan DNA nukleus lebih banyak memiliki variasi genetik karena tingkat

rekombinan yang tinggi. Pohon filogenetik dapat menggambarkan hubungan kekerabatan antara spesies dengan moyang terakhirnya yang paling dekat. Analisis filogenetik menggunakan metode *Construct/Test UPGMA Tree* pada MEGA-X. dengan 500x bootstrap dari kontruksi pohon filogenetik *Ixora* berdasarkan gen *rbcL*, *matK*, dan *trnL* memiliki perbedaan yang spesifik.

Berdasarkan hasil alignment (penjajaran), gen *matK* diduga bukan primer cocok untuk menandai spesies *Ixora* sp. Meskipun, diketahui bahwa *matK* merupakan salah satu *coding region* kloroplas yang berkembang paling pesat dan secara konsisten menunjukkan tingkat diskriminasi yang tinggi, terutama pada Angiospermae (CBOL, 2009). Hal ini disebabkan sekuen gen *matK* tumbuhan *Ixora* memiliki basis data referensi terbatas (spesies sedikit) sehingga sulit digunakan untuk

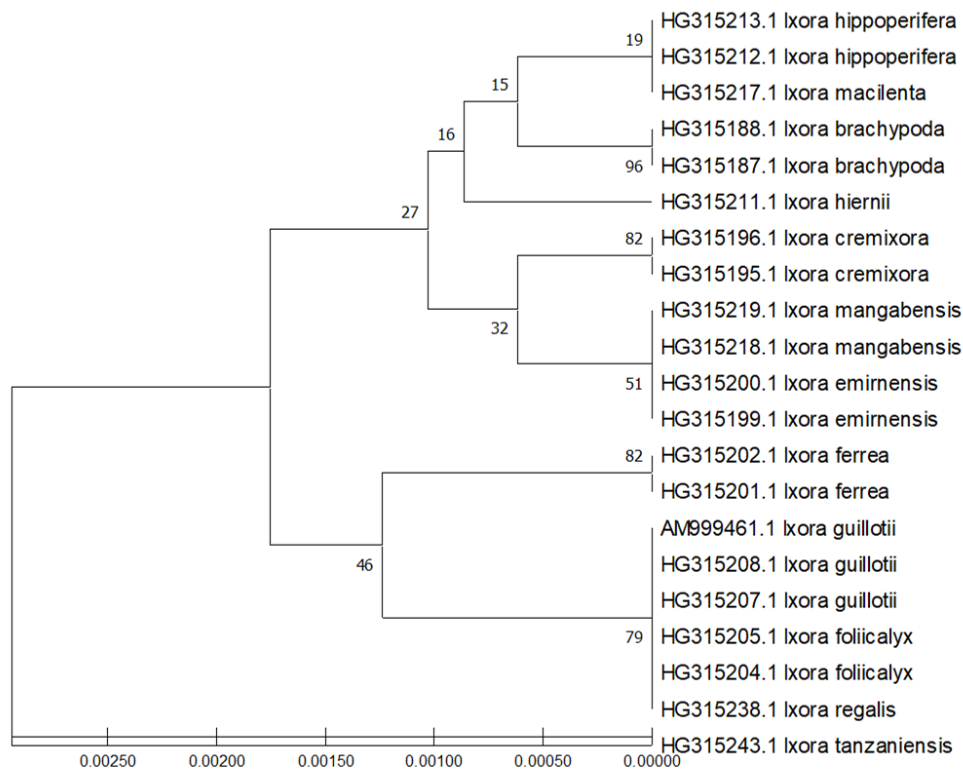
menentukan barcode. Hasil pohon filogenetik yang disusun menggunakan gen *matK* menunjukkan bahwa *I. chinensis* memiliki dua sampel yang sama akan berada di dalam percabangan yang berbeda. Pada *I. pendula* berada di dalam percabangan yang sama dengan *I. chinensis* (MN091840.1) dengan nilai bootstrap 97 sedangkan *I. brevifolia* berada di percabangan yang sama dengan *I. chinensis* (MN091839.1) dengan nilai bootstrap 42. Dari dua sampel *I. chinensis* tersebut diperkirakan spesies *Ixora* yang berbeda karena tidak berada di dalam satu percabangan yang sama, untuk memperjelas diperlukan analisis lebih lanjut. Menurut Nei & Li (1979), makin besar *bootstrap value*, makin tinggi pula tingkat kepercayaan topologi pada hasil rekonstruksi pohon filogenetik.



Gambar 2. Kekerabatan *Ixora* berdasarkan sekuen *matK* (nilai pada cabang internal menunjukan hasil analisis bootstrap 500 kali)

Berdasarkan pohon kekerabatan 21 spesies *Ixora* berdasarkan gen *trnL*, data yang diperoleh cukup informatif akan tetapi masih banyak spesies *Ixora* yang berbeda spesies dalam satu percabangan yang sama. Hasil pohon filogenetik menunjukkan bahwa *I. guilotii* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *I. foliicalyx* dan *I. regalis* karena membentuk satu percabangan yang sama dengan nilai bootstrap 79. Pada *I. mangabensis* dengan *I. emimensis* juga berada di dalam satu percabangan yang sama dengan nilai bootstrap

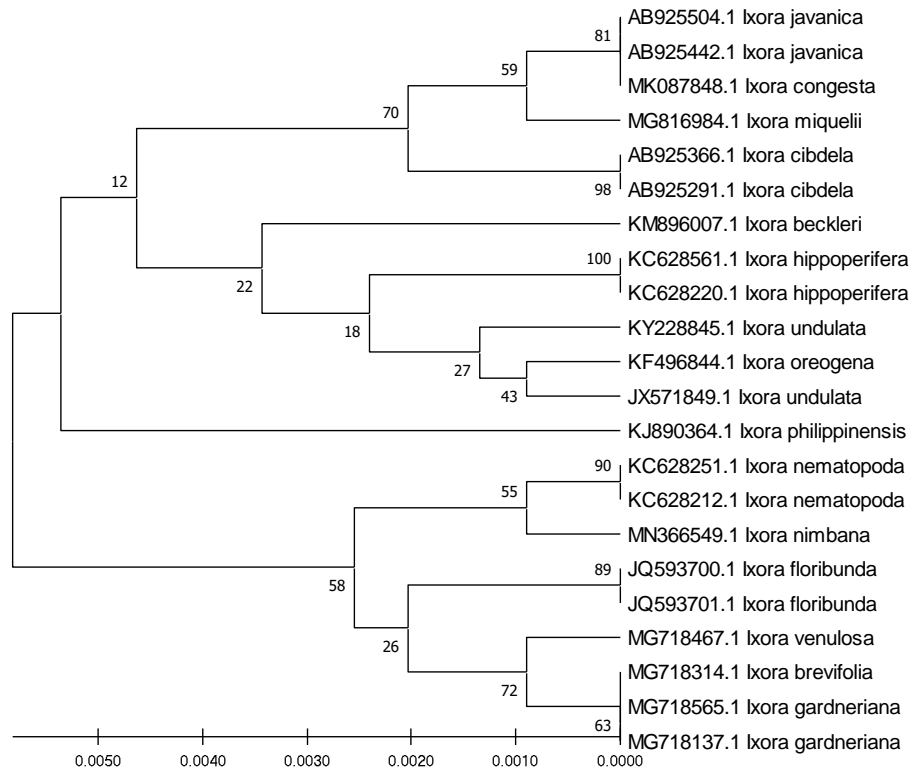
51. Hal ini diperkirakan adanya susunan sekuen dari kedua spesies *Ixora* tersebut memiliki kemiripan sehingga berada di dalam satu sekuen yang sama. Adapun *I. tanzaniensis* yang terpisah dari percabangan *Ixora* yang lainnya, karena diperkirakan adanya susunan sekuen dari *I. tanzaniensis* yang berbeda dengan *Ixora* yang lainnya yang berada di gen *trnL*. Maka gen *trnL* ini belum bisa dijadikan primer yang terbaik untuk tanaman *Ixora* karena gen *trnL* belum bisa membedakan antar jenis dari tanaman *Ixora*.



Gambar 3. Dendrogram kekerabatan *Ixora* berdasarkan sekuen *trnL* (nilai pada cabang internal menunjukkan hasil analisis bootstrap 500 kali).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dari gen *rbcL* memperlihatkan *Ixora congesta* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *I. javanica* (AB925504.1 dan AB925442.1) dengan nilai bootstrap 81 dan *I. brevifolia* berkerabat dekat dengan *I. gardneriana* (MG718585.1 dan MG718137.1) dengan bootstrap 63. Cabang-cabang yang terdapat pada pohon filogenetik memperlihatkan tingkatan sekuen berbeda yang saling berhubungan (Rahayu & Nugroho, 2015). Tiap-tiap spesies yang memiliki tingkat kekerabatan paling dekat dikelompokkan pada cabang yang sama. Menurut Rahayu &

Handayani (2011), makin rendah jarak genetik, makin rendah ketidaksamaan genetik antara individu atau makin dekat hubungan kekerabatan antara individu. Kedekatan hubungan kekerabatan antarpopulasi dapat disebabkan oleh adanya asal-usul leluhur yang sama (*common ancestor*) (Campbell, 2008). Adapun 2 sampel *I. hippoperifera* yang berada dalam satu percabangan yang sama dengan nilai bootstrap 100, hal ini menyakinkan bahwa kedua sampel *I. hippoperifera* merupakan tanaman yang sama karena nilai bootstrap yang tinggi.



Gambar 4. Dendrogram kekerabatan *Ixora* berdasarkan sekuen *rbcL* (nilai pada cabang internal menunjukkan hasil analisis bootstrap 500 kali)

Berdasarkan hasil analisis kekerabatan yang ditunjukkan oleh pohon filogenetik yang terbentuk, diketahui bahwa gen *rbcL* dapat memberikan gambaran yang informatif mengenai pohon kekerabatan molekuler dari *Ixora* pada tingkat spesies. Menurut *Consortium Barcode of Life* atau CBOL (2009), gen *rbcL* memiliki tingkat mutasi lebih rendah dibandingkan penanda DNA kloroplas lainnya, sehingga dapat digunakan sebagai penanda yang baik dalam kajian genetika populasi dan sistematika tumbuhan. Gen *matK* merupakan salah satu *coding region* kloroplas yang berkembang pesat dan menunjukkan tingkat diskriminasi yang tinggi secara konsisten. Sedangkan gen *trnL* adalah DNA *non-coding* yang memiliki laju mutasi dan evolusi yang tinggi (Chiang & Schaal, 2000). Sekuen DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dari suatu spesies dengan cara mengkonstruksi pohon filogenetik.

KESIMPULAN

Penelitian berhasil menganalisis kekerabatan tumbuhan *Ixora* dengan menggunakan sekuen gen *rbcL*, *trnL*, dan *matK* berbasis *in silico*. Gen-gen *rbcL* pada *Ixora* dapat memberikan gambaran yang informatif mengenai topologi pohon kekerabatan molekuler pada tingkat spesies dibandingkan dengan gen *trnL* dan gen *matK*. Oleh karena itu, gen *rbcL* dapat digunakan sebagai DNA *barcode* potensial dalam proses identifikasi jenis-jenis *Ixora* di Kebun Raya Bogor melalui pendekatan molekuler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Mas Hariri, Erlin dan pengawas wilayah vak Rubiaceae Kebun Raya Bogor atas bantuannya selama kegiatan ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

Ariati, S.R., Astuti, R.S., Supriyatna, I., Yuswandi, A. Y., Setiawan, A., Saftaningsih D., & Pribadi, D.O. 2019. *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Bogor Botanic Garden*. Bogor:

- Center for Plant Conservation Botanical Garden.
- Campbell, Reece & Mitchell L. 2008. *Biologi*. Edisi Kedelapan Jilid 1. Jakarta: Erlangga.
- Chiang, T., & Schaal, B.A. 2000. Molecular evolution and phylogeny of the *atpB* – *rbcL* spacer of chloroplast DNA in the true mosses. *Genome*. vol. 43(3): 417-426.
- Consortium Barcode of Life. 2009. A DNA barcode for land plants. Supporting Information. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. vol. 106(31): 12794–12797.
- Davis, A. P., Bridson, D. M., Ruhsam, M., Moat, J., & Brummitt, N. A. 2009. A global assessment of distribution, diversity, endemism, and taxonomic effort in the rubiaceae I. *Annals of the Missouri Botanical Garden*: 68–78.
- de Groot, G. A., During, H. J., Maas, J. W., Schneider, H., Vogel, J. C., & Erkens, R. H. J. 2011. Use of *rbcL* and *trnL-F* as a two-locus DNA barcode for identification of NW-European ferns: An ecological perspective. *PLoS ONE*. vol. 6(1): 1-10.
- Dharmayanti, I. 2011. A Handbook of Living Primates. *WARTAZOA*. vol. 4(1), 137.
- Hajibabaei, M., Singer, G. A. C., Hebert, P. D. N. & Hickey, D. A. 2007. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*. vol. 23(4): 167-172.
- Harsono, T., Pasaribu, N., Sobir, Fitmawati, & Prasetya, E. 2015. Variasi intraspesifik berdasarkan DNA kloroplas (cpDNA) pada *Bouea macrophylla* Griffit. *Prosiding BIOETI3*. vol. 3(October): 1–12.
- Hariri, M. R., Peniwidiyanti, P., Irsyam, A. S. D., Irwanto, R. R., Martiansyah, I., Kusnadi, K., & Yuhaeni, E. 2021. Molecular identification and morphological characterization of *Ficus* sp. (Moraceae) in Bogor Botanic Gardens. *Jurnal Biodjati*. vol. 6(1), 36-44.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. vol. 270(1512), 313–321.
- Hidayat, T. & Pancoro, A. 2008. Kajian Filogenetik Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal Agro Biogen*. vol. 4(1): 35- 40.
- Hidayat, T., Kusumawaty, D., Kusdianti., Yati, D. D., Muchtar, A. A. & Mariana, D. 2008. Analisis filogenetik molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) menggunakan urutan basa DNA Daerah Internal Transcribed Spaces (ITS). *Jurnal Matematika dan Sains*. vol. 13(1): 16-21.
- Irawan, P. D., Tallei, T. E. & Kolondam, B. J. 2016. Analisis sekuen dan filogenetik beberapa tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara berdasarkan Gen matK. *Jurnal Ilmiah Sains*. vol. 16(2): 43-50.
- Jhariya, M.K., Raj, A., Sahu, K.P., Paikra, P. R. 2013. Neem- A Tree for solving global problem Manoj Kumar Jhariya. *Indian Journal of Applied Research*. vol. 3(10): 1–3.
- Jaiswal, R., Karar, M. G. E., Gadir, H. A. and Kuhnert, N. 2014. Identification and characterisation of phenolics from *Ixora coccinea* L. (Rubiaceae) by Liquid Chromatography Multi-stage Mass Spectrometry. *Phytochemical Analysis*. vol. 25(6): 567–576.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X : Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. vol. 35(6): 1547–1549.
- Lehninger. 1982 . *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 3* (Terj. Maggy Tenawijaya). Jakarta: Erlangga.
- Martiansyah, I., Putranto, R. A., & Khumaida, N. 2017. Identification of putative gene family encoding protease inhibitors by in silico comparative analysis in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg genome. *Menara Perkebunan*. vol. 85(2): 53-66.
- Martiansyah, I., Haris, N., Husniyati, T., & Purwakusumah, E. D. 2018. Genetic variation analysis of *Hevea brasiliensis* genotype population of in vitro micro-cutting culture by RAPD marker. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. vol. 4(2): 57-62.
- Maruzy, A., Jannah, D.A.F., Pitoyo, A., & Subositi, D. 2020. Studi perbandingan karakter makroskopis dan mikroskopis tiga jenis *Phyllanthus* L. *FLORIBUNDA: Jurnal Sistematika Tumbuhan*. vol. 6(4): 154-166.
- Mouly, A., Razafimandimbison, S. G., Khodabandeh, A., & Bremer, B. 2009. Phylogeny and classification of the species-rich pantropical showy genus *Ixora* (rubiceae-ixoreae) with indications of geographical monophyletic units and hybrids. *American Journal of Botany*. vol. 96(3): 686–706.
- Nei, M., & Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. vol. 76(10): 5269–5273.
- Nur, A., & Syahrudin, K. 2012. Aplikasi teknologi mutasi dalam pembentukan varietas gandum tropis. *Balai Penelitian Tanaman Serealia*: 185-202.
- Ochieng, J. W., Murigai, A. W. T. & Ude, G. N. 2007. Review: Phylogenetics in plant biotechnology: principles, obstacles, and opportunities for resource poor. *African Journal of Biotechnology*. vol. 6(6): 639-649.
- Putranto, R. A., & Martiansyah, I. 2018. Differential in silico expression of *Hevea brasiliensis* COBRA transcripts. *1st International Conference on Bioinformatics, Biotechnology, and Biomedical*

Engineering-Bioinformatics and Biomedical Engineering. vol. 1: 1-4.

- Putranto, R. A., Martiansyah, I., & Sari, D. A. 2020. In silico identification of three putative SWEET genes in *Metroxylon sagu*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. vol. 482(1): 012026.
- Rahayu, D. A., & Nugroho, E. D. 2015. *Biologi Molekuler dalam Perspektif Konservasi*. Yogyakarta: Plantaxia.
- Rahayu, S. E., & Handayani, S. 2011. Keragaman genetik pandan asal Jawa Barat berdasarkan penanda inter simple sequence repeat. *MAKARA of Science Series*. vol. 14(2): 10–15.
- Tosh, J., Dessein, S., Buerki, S., Groeninckx, I., Mouly, A., Bremer, B., Smets, E. F., & De Block, P. 2013. Evolutionary history of the Afro-Madagascan *Ixora* species (Rubiaceae): Species diversification and distribution of key morphological traits inferred from dated molecular phylogenetic trees. *Annals of Botany*. 112(9): 1723–1742.