



Karakterisasi Molekuler Tumbuhan Sidingin (*Kalanchoe* sp.) Asal Riau Menggunakan Empat Penanda Barkode DNA

Molecular Characterization of Sidingin Plant (*Kalanchoe* sp.) from Riau Using Four DNA Barcodes

Herman^{1*}

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

Jl HR Soebrantas, Kampus Bina Widya Km 12,5 Panam, Pekanbaru 28293, Riau, Indonesia

Email: herman@lecturer.unri.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Sidingin (*Kalanchoe* sp.) is a Crassulaceae medicinal succulent plant. The species name of sidingin from Riau has not yet been determined. Determining plant species names can be performed using DNA barcodes, such as *matK*, *rbcL*, and ITS. DNA barcoding research on this plant has never been carried out. This research aims to analyze four DNA barcodes in sidingin (*Kalanchoe* sp.) from Riau such as ITS, *trnL-trnL-trnF* intergenic spacer (IGS), *ndhC-trnV* IGS and *rpl16* intron. The DNA sequences of ITS, *trnL-trnL-trnF* IGS, *ndhC-trnV* IGS, and *rpl16* intron have been obtained with the length of 662 bp, 909 bp, 949 bp, and 944 bp, respectively. Those have been registered in GenBank with the number, respectively, MW297180, MW297177, MW297178, and MW297179. Nucleotide composition in ITS was different from three others. No accessions in GenBank that had 100% similarity to sidingin due to the species name of this plant could not be determined. The lower nucleotide variation was found in *trnL-trnL-trnF* IGS (9,65%) with percentage of substitution and indel mutations were similar. But uniquely, the critical nucleotides that were marker nucleotide were much found in *trnL-trnL-trnF* IGS (1,41%). Conclusion, *trnL-trnL-trnF* IGS can be used to identify sidingin comparing three DNA barcodes observed.

Keywords: DNA barcode, ITS, *Kalanchoe* sp., *rpl16* intron, *trnL-trnL-trnF* IGS

Abstrak

Sidingin (*Kalanchoe* sp.) merupakan tumbuhan sukulen dari famili Crassulaceae yang tumbuh liar namun memiliki beberapa manfaat sebagai tumbuhan obat. Sidingin asal Riau belum dapat ditentukan nama spesiesnya. Penentuan nama spesies tumbuhan dapat dilakukan menggunakan beberapa barkode DNA, seperti *matK*, *rbcL*, dan ITS. Penelitian barcoding DNA pada sidingin asal Riau belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan menganalisis empat barkode DNA pada tumbuhan sidingin (*Kalanchoe* sp.) asal Riau, yaitu ITS, *trnL-trnL-trnF* intergenic spacer (IGS), *ndhC-trnV* IGS, dan *rpl16* intron. Pada penelitian ini telah diperoleh sekuens DNA untuk ITS, *trnL-trnL-trnF* IGS, *ndhC-trnV* IGS, dan *rpl16* intron dengan panjang basa secara berturut-turut 662 pb, 909 pb, 949 pb, dan 944 pb. Keempatnya telah didaftarkan dengan nomor registrasi, secara berturut-turut, MW297180, MW297177, MW297178, dan MW297179. Komposisi nukleotida pada ITS berbeda dengan ketiga barkode DNA lainnya. Tidak ada akses di *GenBank* yang memiliki kemiripan 100% dengan sidingin sehingga nama spesies dari sidingin belum dapat ditentukan. Variasi nukleotida paling sedikit dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (9,65%) dengan jumlah mutasi substitusi dan indels relatif mirip. Namun uniknya, nukleotida kritis yang merupakan nukleotida pencari paling banyak dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (1,41%). Kesimpulan, barkode DNA *trnL-trnL-trnF* IGS dapat digunakan untuk mengidentifikasi tumbuhan sidingin dibandingkan ketiga sekuens lainnya yang diteliti.

Kata kunci: Barkode DNA, ITS, *Kalanchoe* sp., *rpl16* intron, *trnL-trnL-trnF* IGS

Diterima: 22 Mei 2023, Direvisi: 10 Mei 2024, Disetujui: 23 Mei 2024



Pendahuluan

Tumbuhan sidingin atau cocor bebek (*Kalanchoe* sp.) merupakan tanaman sukulen dari famili *Crassulaceae* dan cukup banyak ditemukan di daerah yang beriklim tropis seperti Asia. Sidingin dapat hidup di daerah yang kering dan panas seperti Riau. Genus *Kalanchoe* mengandung metabolit sekunder yang sudah banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat herbal, seperti untuk penurun panas atau demam, mengobati bisul, peluruh dahak, radang amandel, dan luka bakar (Fernandes *et al.*, 2019). Ekstrak tumbuhan ini dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* penyebab demam tinggi dan penyakit tipus (Purwatiningsih dan Lestari, 2020).

Sistematika spesies dalam genus *Kalanchoe* sering diperdebatkan karena tumbuhan sidingin memiliki banyak variasi dan mudah bersilang antar spesies serta dapat berkembangbiak secara aseksual dengan tunas adventif (Kahraman *et al.*, 2022). Tumbuhan sukulen ini memiliki sekitar 125 spesies yang tersebar di daerah tropis seperti Afrika Timur dan Selatan, Arab, dan Asia Tenggara (Britannica, 2023). Tumbuhan sidingin yang diteliti memiliki ciri sebagai berikut: batang bulat dengan tinggi hingga 1,5 m, permukaan batang berbintik. Panjang daun mencapai 20 cm, duduk daun *opposite decussate*, pasangan daun terpisah agak lebar, daun bertekstur lembut, dan sedikit melengkung ke bawah, daun berwarna hijau mengkilat. Bentuk daun *ovate*, ujung daun *obtuse-rounded*, pangkal daun *obtuse*, tepi daun *crenate-dentate*. Ketebalan daun < 0,1 cm dan panjang tangkai daun hingga 10 cm, daun tidak memiliki rambut/bulu. Karakter bunga, buah, biji tidak dapat dilakukan karena organ tersebut tidak dijumpai (Putra, 2021).

Pada tahun 2003, ilmuwan telah mengembangkan teknik identifikasi organisme berbasis DNA yang disebut dengan teknik barkoding DNA. Sekuens DNA yang digunakan untuk identifikasi molekuler disebut dengan barkode DNA, yaitu sekuens DNA berukuran pendek (sekitar 700 pb) yang telah diketahui posisinya di genom organisme yang dimanfaatkan untuk mengidentifikasi suatu organisme (DeSalle & Goldstein, 2019). Sumber sekuens yang digunakan dalam

barkoding DNA dapat diperoleh dari DNA inti (nDNA), DNA kloroplas (cpDNA) dan DNA mitokondria (mtDNA) (Blair, 2023).

Teknik barkoding DNA dikembangkan dengan tujuan mempercepat dan mempermudah proses identifikasi suatu organisme secara molekuler. Teknik ini memiliki beberapa kelebihan, seperti dapat dilakukan pada suatu organisme dalam semua bentuk tingkatan kehidupan, organisme yang keadaannya tidak utuh serta organisme yang DNANYA sudah terdegradasi, serta dapat diaplikasikan pada berbagai spesies yang bentuk morfologinya sulit dibedakan (DeSalle & Goldstein, 2019). Pada prakteknya, kemudahan yang ditawarkan oleh teknik DNA barkoding tersebut harus disertai dengan kelengkapan *database* sekuens barkode DNA dan juga data lain yang terkait, seperti morfologi dan fenotipe lainnya. Hal ini berarti bahwa kedua teknik identifikasi, secara konvensional dan molekuler, bersifat saling melengkapi (Roslim *et al.*, 2023a).

Beberapa sekuens DNA pendek telah dikembangkan sebagai barkode DNA untuk kepentingan identifikasi tumbuhan secara molekuler, diantaranya sekuens *rbcL*, *matK*, dan ITS (Cetiz *et al.*, 2023). Oleh karena identifikasi secara molekuler pada tumbuhan sebaiknya dilakukan menggunakan kombinasi barkode DNA maka ilmuwan telah mengembangkan banyak barkode DNA untuk keperluan identifikasi tumbuhan secara molekuler, terutama pada daerah di antara dua gen (disebut *intergenic spacer*, IGS). Pada genom kloroplas tumbuhan, daerah IGS dipilih untuk dikembangkan karena laju mutasinya tinggi dan sangat berbeda sekuensnya di antara spesies berbeda. Daerah DNA ini mudah dianalisis dan baik digunakan untuk identifikasi dan menemukan spesies baru (Wang *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2022).

Ribosom pada sel organisme eukaryotik tersusun oleh dua sub unit, yaitu sub unit besar dan kecil. Sub unit kecil tersusun oleh sebuah molekul rRNA, yaitu 18S rRNA dan 35 protein ribosomal. Sub unit besar tersusun oleh 3 macam molekul rRNA, yaitu 26S/28S rRNA, 5.8S rRNA dan 5S rRNA, dan 50 protein ribosomal. Sekuens DNA penyandi 18S rRNA, 5.8S RNA dan 26S/28S rRNA tersusun dalam satu transkrip dan dipisahkan oleh *internal transcribed spacer* (ITS). Antara sekuens DNA penyandi 18S rRNA dan 5.8S RNA dipisahkan oleh ITS1. Sementara itu, antara 5.8S RNA dan

26S/28S rRNA dipisahkan oleh ITS2. Panjang sekuens DNA dari ITS1- 5.8S rRNA - ITS2 pada tumbuhan sekitar 600 pb (Sáez-Vásquez and Delseny, 2019).

Daerah *trnL-trnF* IGS merupakan *spacer* di antara gen penyandi tRNA-Leucine (*trnL*) dan tRNA-Phenylalanine (*trnF*). Gen *trnL* memiliki tiga daerah, yaitu *trnL(UAA)5'ekson*, *intron*, dan *trnL(UAA)3'ekson* dengan total panjangnya pada *Nicotiana tabaccum*, *Oryza sativa* dan *Marchantia* secara berturut-turut sebesar 577 pb, 614 pb, dan 389 pb. Sementara itu, gen *trnF* tidak memiliki *intron*. *Spacer* di antara *trnL(UAA)3'ekson* dengan gen *trnF* berukuran 438 pb, 324 pb dan 158 pb, secara berturut-turut. Rata-rata panjang daerah gen *trnL* pada tanaman sebesar 362 bp. Analisis barkoding DNA menggunakan *trnL-trnL-trnF* IGS mencakup daerah *ekson* dan *intron* dari gen *trnL* serta *spacer* (Roslim *et al.*, 2021). Sementara itu, daerah *ndhC-trnV* IGS adalah sekuens non penyandi yang terletak di DNA kloroplas. Sekuens ini berada di antara gen *ndhC* dan *trnV*. Sekuens yang berukuran sekitar 318-1.800 pb ini memiliki tingkat variabilitas yang lebih tinggi dari pada sekuens penyandi, sehingga diasumsikan lebih bermanfaat dalam analisis pada tingkat taksonomi yang lebih rendah (Kim *et al.*, 2023).

Gen *rpl16* adalah daerah DNA pada genom kloroplas yang menyandikan protein ribosomal L16 yang memiliki dua *ekson* yang

dipisahkan oleh *intron* dengan panjang bervariasi. *Intron* merupakan daerah non-koding dari sebuah gen yang dapat ditranskripsikan akan tetapi tidak ditranslasikan. Secara umum daerah non-koding memiliki variasi karena laju mutasinya yang relatif tinggi dibandingkan daerah koding (Li *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2023). Urutan daerah non-koding dari genom kloroplas ini adalah sumber data utama untuk studi molekuler, filogeografik dan genetika populasi tanaman.

Selain nama spesies yang belum jelas, informasi ilmiah terutama yang berbasis DNA pada tumbuhan sidingin *Kalanchoe* sp. ini sangat terbatas. Informasi tersebut sangat penting untuk keperluan konservasi tumbuhan ini. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis empat sekuens barkode DNA pada tumbuhan sidingin (*Kalanchoe* sp.), meliputi sekuens DNA dari ITS, *trnL-trnF* IGS, *ndhC-trnV* IGS, dan *rpl16 intron*.

Metode Penelitian

Bahan Penelitian. Bahan penelitian yang digunakan adalah daun dari tumbuhan sidingin (*Kalanchoe* sp.) yang tumbuh di lingkungan Kampus Universitas Riau, Panam, Pekanbaru, Riau. Pasangan primer yang digunakan untuk mengamplifikasi empat sekuens barkode DNA disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar primer yang digunakan. (*List of primer used in this study*).

Primers	Sequence (5'→3')	Ta (°C)	Regions	Reference
FP_ITS5_F	GAAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	47.0	<i>internal transcribed spacer</i>	
FP_ITS4_R	TCCTCCGCTTATTGATATGC			
B49317_F2	CGAAATCGGTAGACGCTACG	51.8	<i>trnL(UAA)</i>	
A49855_R2	GGGATAGAGGGACTTGAAC			
B49873_F3	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	50.6	<i>trnL(UAA) 3'exon-trnF intergenic spacer</i>	Roslim <i>et al.</i> , 2021
A50272_R3	ATTTGAACTGGTGACACGAG			
<i>ndhC</i>	TATTATTAGAAATGYCCARAAAATATCATATTC	48.7	<i>ndhC-trnV intergenic spacer</i>	
<i>trnV^(UAC)x2</i>	GTCTACGGTTCGARTCCGTA			
<i>rpl16_F71</i>	GCTATGCTTAGTGTGTGACTCGTT	47.0	<i>rpl16 intron</i>	
<i>rpl16_R1516</i>	CCCTTCATTCTTCCTCTATGTTG			

Metode penelitian secara keseluruhan meliputi: isolasi DNA, PCR, elektroforeis, purifikasi PCR, sekuensing, dan analisis sekuens DNA menggunakan bioinformatika.

Isolasi Genom DNA dan Uji Kualitatif.

Isolasi genom DNA dilakukan dari daun menggunakan *Genomic DNA Mini Kit Plant* mengikuti instruksi pabrik (*Geneaid*). Sampel pucuk diambil, dibelah dan dibuang lendirnya, kemudian lembaran daun ditimbang seberat 100 mg untuk keperluan isolasi DNA. Uji kualitatif dilakukan dengan elektroforesis pada gel agarose 1% untuk memperkirakan kualitas DNA. Larutan penyangga menggunakan TBE (Tris-Borate-EDTA pH 8,0) 1X dan pewarna etidium bromida 5 µg/ml. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 volt selama 40 menit. Visualisasi pita DNA menggunakan lampu UV (*WiseUv WUV-M20, Daihan Scientific*) dan dokumentasi dengan kamera digital berfilter UV (*Olympus*). Larutan DNA total kemudian disimpan pada suhu -20°C sedangkan larutan DNA kerja disimpan di suhu 4°C (Roslim *et al.*, 2021).

Amplifikasi DNA dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Amplifikasi DNA target dilakukan dengan komponen PCR sebagai berikut: 1X buffer PCR (plus Mg²⁺), 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM primer *forward*, 0,5 µM primer *reverse*, 2 U enzim *Dream Taq DNA polymerase (Thermo Scientific)*, 10 ng DNA total, dan air hingga total volume reaksi PCR 50 µl. Program PCR meliputi: pra-PCR pada 95°C selama 5 menit, lalu diikuti proses amplifikasi sebanyak 35 siklus yang meliputi tahapan denaturasi pada

95°C selama 45 detik, penempelan primer (*annealing*) dengan suhu sesuai pasangan primernya (Tabel 1) selama 45 detik, dan pemanjangan primer atau sintesis DNA pada 72°C selama 1 menit 30 detik. Setelah itu, pasca-PCR pada 72°C selama 10 menit. Produk PCR dideteksi dengan teknik elektroforesis (Roslim *et al.*, 2021).

Purifikasi Produk PCR dan Sekuensing. Purifikasi dan sekuensing dilakukan pada mesin *sequencer* DNA otomatis di 1st Base, Malaysia melalui penyedia jasa PT Genetika Science Indonesia, Jakarta.

Analisis Bioinformatika. Data sekuens DNA dianalisis dan disejajarkan menggunakan program BioEdit v7.2.5, MEGA6, dan BLASTn pada *web site* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> (Roslim *et al.*, 2021).

Hasil dan Pembahasan

Molekul DNA total pada tumbuhan sidingin telah diperoleh dan telah dijadikan cetakan pada proses PCR menggunakan lima pasang primer. Produk PCR yang diperoleh juga telah disekuensing dan sekuens DNA yang diperoleh dari keempat barkode DNA target berukuran 662 pb untuk ITS, 909 pb untuk *trnL-trnL-trnF* IGS, 949 pb untuk *ndhC-trnV* IGS, dan 944 pb untuk *rpl16 intron* (Gambar 1). Keempatnya telah didaftarkan di *GenBank* dengan nomor registrasi, secara berturut-turut, MW297180, MW297177, MW297178, dan MW297179.



Gambar 1. Empat sekuens barkode DNA pada sidingin (*Kalanchoe* sp.).

Teknik barkoding DNA hingga saat ini telah berkembang pesat yaitu dengan dilakukannya banyak penelitian untuk mengembangkan sekuens barkode DNA pada tumbuhan. Hal ini karena untuk identifikasi tumbuhan secara molekuler diperlukan lebih dari satu barkode DNA. Sekuens barkode DNA yang telah dikembangkan sampai saat ini mengarah kepada daerah DNA di genom kloroplas terutama daerah *spacer* dan *intron*. Keduanya memiliki laju mutasi yang tinggi dari pada daerah penyandi protein seperti *rbcL* dan

matK yang sudah lebih dulu ditetapkan sebagai barkode DNA standar untuk barkoding DNA tumbuhan (Zhu *et al.*, 2022; Osman 2024).

Pada penelitian ini telah diperoleh bahwa komposisi basa nitrogen pada sekuens ITS berbeda dengan ketiga sekuens barkode DNA lainnya. Komposisi basa nitrogen C dan G pada sekuens ITS lebih tinggi dari pada T/U dan A. Sebaliknya, pada tiga sekuens barkode DNA lainnya, komposisi basa nitrogen T/U dan A lebih tinggi dari pada C dan G (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata Frekuensi Basa Nitrogen (%) pada Empat Sekuens Barkode DNA yang Dianalisis

No.	Daerah DNA	Rata-rata Frekuensi Basa Nitrogen (%)			
		T/U	C	A	G
1.	ITS	17,9	31,4	20,4	30,3
2.	<i>trnL-trnL-trnF</i> IGS	29,3	17,9	35,4	17,3
3.	<i>ndhC-trnV</i> IGS	36,0	15,2	33,3	15,5
4.	<i>rpl16 intron</i>	39,4	18,1	28,0	14,5
Rata-rata		30,6	20,7	29,3	19,4

Tabel 3. Hasil Analisis BLASTn pada Empat Sekuens Barkode DNA Sidingin (*Kalanchoe* sp.)

No.	Daerah DNA	Aksesi Teratas	Query Cover (%)	E-value	Kemiripan (%)
1.	ITS	<i>Kalanchoe pinnata</i>	99	0,00	97,41
2.	<i>trnL-trnL-trnF</i> IGS	<i>Kalanchoe daigremontiana</i>	100	0,00	97,16
3.	<i>ndhC-trnV</i> IGS	<i>Bryophyllum daigremontianum</i>	100	0,00	98,85
4.	<i>rpl16 intron</i>	<i>Kalanchoe fedtschenkoii</i>	100	0,00	98,52

Perbedaan komposisi basa antara barkode DNA asal genom inti (yaitu ITS) dan kloroplas (*trnL-trnL-trnF* IGS, *ndhC-trnV* IGS, dan *rpl16 intron*) (Tabel 2) menunjukkan bahwa DNA genom keduanya memiliki karakteristik berbeda. Barkode DNA ITS memiliki komposisi G+C lebih tinggi dibandingkan A+T, sebaliknya pada ketiga barkode DNA lain yang diteliti komposisi A+T lebih tinggi dibandingkan G+C.

Hasil analisis BLASTn pada keempat sekuens barkode DNA yang diteliti pada penelitian ini menunjukkan bahwa aksesi yang muncul paling atas pada hasil analisis BLASTn walaupun nilai *query cover* tinggi, yaitu 99%-100% dan *E-value* sebesar 0,00 tetapi tidak ada yang memiliki kemiripan 100% dengan sidingin (*Kalanchoe* sp.). Selain itu, aksesi teratas yang muncul berbeda-beda, tidak didominasi oleh satu spesies saja (Tabel 3).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa belum pernah ada laporan dan deposit mengenai keempat sekuens yang diteliti pada *database GenBank*. Data terakhir (*update* 11 November 2021) dari *database GenBank* menunjukkan bahwa ada 80 sekuens ITS dan 7 sekuens *trnL-trnL-trnF* IGS, sementara sekuens *ndhC-trnV* IGS dan *rpl16 intron* belum tersedia sama sekali. Oleh karena itu, untuk menunjang barkoding DNA pada tumbuhan ini sangat diperlukan analisis barkode DNA dan lalu mendaftarkannya ke *GenBank* agar dapat diakses publik.

Selain itu, hasil analisis BLASTn juga mengindikasikan bahwa nama ilmiah tumbuhan sidingin masih belum dapat ditentukan pada penelitian ini. Untuk menentukan nama spesies tumbuhan maka nilai kemiripannya harus 100% sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Roslim *et al.* (2023b) pada tumbuhan mamon (*Cleome gynandra*) menggunakan barkode DNA berupa *matK* dan *trnL-trnL-trnF* IGS.

Pada penelitian ini, variasi nukleotida paling banyak dijumpai pada daerah *intron* dari gen *rpl16* (20,10%) dan variasi tersebut disebabkan oleh mutasi indels (45%) dan substitusi (55,00%). Sebaliknya, variasi nukleotida paling sedikit dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (9,65%) yang jumlah mutasi substitusi dan indels relatif mirip. Uniknya, nukleotida kritis yang merupakan nukleotida penciri tumbuhan sidingin paling banyak dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (1,41%) dan bukan pada *rpl16 intron* (0,10%) (Tabel 4). Selain itu, mutasi indels dan substitusi dijumpai relatif seimbang kejadiannya pada tiga barkode DNA selain ITS. Pada sekuens ITS, mutasi substitusi lebih banyak (13,4%) dibandingkan mutasi indels (5,35%) (Tabel 4). Variasi DNA tersebut dapat terjadi karena adanya mutasi substitusi ataupun indel. Oleh karenanya, perpaduan barkode DNA dari genom inti dan kloroplas harus dipertimbangkan untuk barkoding DNA pada tumbuhan.

Tabel 4. Jumlah dan Presentase Variasi Nukleotida, Mutasi Indels, Mutasi Substitusi, dan Nukleotida Kritis pada Empat Sekuens Barkode DNA yang Diteliti

No.	Daerah DNA	Variasi DNA		Mutasi Indels		Mutasi Substitusi		Nukleotida Kritis	
		(pb)	(%)	(pb)	(%)	(pb)	(%)	(pb)	(%)
1.	ITS	126	18,72	36	5,35	90	13,4	3	0,45
2.	<i>trnL-trnL-trnF</i> IGS	82	9,65	34	4,00	48	5,65	12	1,41
3.	<i>ndhC-trnV</i> IGS	107	11,05	62	6,40	45	4,65	1	0,10
4.	<i>rpl16 intron</i>	200	20,10	90	45,00	110	55,00	1	0,10
	Rata-rata	129	14,88	56	15,19	73	19,67	4	0,51

Nukleotida kritis, yaitu nukleotida yang menjadi penciri bagi sidingin (*Kalanchoe* sp.), yang dijumpai pada tiga barkode DNA selain *trnL-trnL-trnF* IGS adalah berupa mutasi substitusi. Sementara itu, pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS, nukleotida kritis berupa delesi pada sidingin berjumlah delapan buah dan sisanya berupa tiga buah mutasi substitusi dan satu buah mutasi indels (Tabel 4).

Paling banyaknya nukleotida kritis yang dijumpai pada sekuens *trnL-trnL-trnF* IGS (Tabel 4) menunjukkan bahwa sekuens *trnL-trnL-trnF* IGS sangat potensial untuk barkoding DNA tumbuhan ini. Laporan sebelumnya juga menunjukkan bahwa *trnL-trnL-trnF* IGS dapat menjadi penciri bagi tumbuhan lain, seperti cocor bebek (Roslim *et al.*, 2021) dan mamon (Roslim *et al.*, 2023b). Daerah *trnL-trnL-trnF* IGS sangat potensial untuk barkoding DNA, selain karena dapat menghasilkan nukleotida kritis yang menjadi penciri spesies tertentu, juga karena amplifikasinya mudah dan primer universalnya sudah tersedia.

Simpulan

Sekuens barkode DNA yang diteliti pada penelitian ini telah didaftarkan pada *GenBank* dengan nomor registrasi untuk ITS, *trnL-trnL-trnF* IGS, *ndhC-trnV* IGS, dan *rpl16 intron*, secara berturut-turut, MW297180, MW297177, MW297178, dan MW297179. Komposisi basa pada sekuens ITS berbeda dengan ketiga sekuens barkode DNA lainnya. Tidak ada aksesori di *GenBank* yang memiliki kemiripan 100% dengan tumbuhan sidingin (*Kalanchoe* sp.) sehingga nama spesies belum dapat ditentukan. Variasi nukleotida paling sedikit dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (9,65%) dengan jumlah mutasi substitusi dan indels relatif mirip. Namun unikunya, nukleotida

kritis paling banyak dijumpai pada daerah *trnL-trnL-trnF* IGS (1,41%).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh PNBPFMIPA Universitas Riau dengan nomor 103o/UN19.5.1.1.3/PL.01.00/2021. Ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Dewi Indriyani Roslim, M.Si., Yuda Oktano Putra, S.Si., Yory Bago, S.Si., dan Henni Natalia Sihotang, S.Si. atas diskusi dan bantuan teknisnya.

Daftar Pustaka

- Blair, C. (2023). Organellar DNA continues to provide a rich source of information in the genomics era. *Molecular Ecology* 32: 2144–2150.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (diakses 18 Mei 2023). *Crassulaceae*. *Encyclopedia Britannica*.
<https://www.britannica.com/plant/Crassulaceae>
- Cetiz, M. V., Turumtay, E. A., Burnaz, N. A., Özhatay, F. N., Kaya, E., Memon, A. & Turumtay, H. (2023) Phylogenetic analysis based on the ITS, *matK* and *rbcL* DNA barcodes and comparison of chemical contents of twelve *Paeonia* taxa in Türkiye. *Molecular Biology Reports* 50(6): 5195-5208.
- DeSalle, R. & Goldstein, P. (2019), Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7:302.
- Fernandes, J.M., Cunha, L.M., Azevedo, E.P., Lourenço, E.M.G., Fernandes-Pedrosa, M.F. & Zucolotto, S.M. (2019). *Kalanchoe laciniata* and *Bryophyllum pinnatum*: An updated review about ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and

- toxicology. *Braz. Revista Brasileira de Farmacognosia* 29(4): 529–558.
- Kahraman, M. U., Mendi, Y. Y., Karabiyik, S., Lutken, H. V. & Favero, B. T. (2022). Kalanchoe breeding: past, present and future. *Ornamental Horticulture* 28(1): 19-35.
- Kim, K.-R., Park, S.Y., Kim, H., Hong, J.M., Kim, S.-Y. & Yu, J.-N. (2023). Complete chloroplast genome determination of *Ranunculus sceleratus* from Republic of Korea (Ranunculaceae) and comparative chloroplast genomes of the members of the *Ranunculus* genus. *Genes* 14(6): 1149.
- Li, C., Zhao, Y., Xu, Z., Yang, G., Peng, J. & Peng, X. (2020). Initial Characterization of the Chloroplast genome of *Vicia sepium*, an important wild resource plant, and related inferences about its evolution. *Frontiers in Genetics* 11:73.
- Osman, S. A. (2024). The power of DNA barcoding for plant identification. *Egyptian Journal of Chemistry* 67(1): 633-646.
- Purwatiningsih, E. & Lestari, D. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam)) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan metode Kirby Bauer. *Jurnal Ilmiah Kesehatan* 12(2): 142-148.
- Putra, Y.O. 2021. *Analisis Sekuens Barkode DNA pada Daerah rpl16 Intron Tumbuhan Cocor Bebek [Skripsi]*. Universitas Riau.
- Roslim, D. I., Herman, Adiwirman & Lestari, W. (2023a). *Barkoding DNA (Jilid 1)*. Penerbit Karya Makmur. Yogyakarta.
- Roslim, D. I., Herman, Putri, S. R., Furqoni, A. T., Budiono, D. Y. F., Altuhaish, A. A. F. & Lestari, W. (2023b). Verification of mamon (*Cleome gynandra* (L.) Briq.) from Riau based on *matK* and *trnL-trnL-trnF intergenic spacer*. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 15(3): 296-305.
- Roslim, D. I., Putra, Y. O., Dewi, Y. M., Bago, Y., Sitohang, H., Herman, Fitmawati & Sofiyanti, N. (2021). First record of five DNA barcodes on nothospecies cocor bebek (*Kalanchoe × laetivirens*). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 53(2): 263-377.
- Sáez-Vásquez, J. & Delseny, M. (2019). Ribosome biogenesis in plants: from functional 45S ribosomal DNA organization to ribosome assembly factors. *The Plant Cell* 31(9): 1945–1967.
- Xu, Y., Liu, Y., Yu, Z. & Jia, X. (2023). Complete chloroplast genome sequence of the long blooming cultivar *Camellia* ‘Xiari Qixin’: Genome features, comparative and phylogenetic analysis. *Genes* 14(2): 460-473.
- Wang, X., Xue, J., Zhang, Y., Xie, H., Wang, Y., Weng, W., Kang, Y. & Huang, J. (2020). DNA barcodes for the identification of *Stephania* (Menispermaceae) species. *Molecular Biology Reports* 47(3): 2197-2203.
- Yuan, L., Tan, G., Zhang, W., Xue, B., Deng, J., Liu, L., & Yao G. (2022). Molecular and morphological evidence for a new species of *Pogostemon* (Lamiaceae) from Hainan Island, China. *PhytoKeys* 188: 177-191.
- Zhu, S., Liu, Q., Qiu, S., Dai, J. & Gao, X. (2022). DNA barcoding: an efficient technology to authenticate plant species of traditional Chinese medicine and recent advances. *Chinese Medicine* 17: 112.