

DNA Barcoding Analysis Kitolod (*Hippobroma longiflora*) from Riau Based on *matK* Gene

Herman*, Mayang Sari, Nella Multivasari, Dewi Indriyani Roslim

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

Article History

Received : January 04th, 2025

Revised : January 23th, 2025

Accepted : February 14th, 2025

*Corresponding Author:

Herman,

Jurusan Biologi, Fakultas
Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas
Riau, Pekanbaru, Indonesia
Email:

herman@lecturer.unri.ac.id

Abstract: The kitolod plant (*Hippobroma longiflora*) is a traditional medicinal plant originating from the Campanulaceae family. DNA barcoding is a technique for identifying an organism using short nucleotide sequences known as DNA barcoding. One of the DNA barcodes in plants is *matK*. This research aims to analyze DNA barcode sequence in the *matK* region of the kitolod plant using the DNA barcode. Samples were taken from the area of Tarai Bangun Village, Kampar Regency, Riau Province, Indonesia as many as two different individuals. The research stages carried out are sampling, followed by DNA isolation using the Geneaid Mini Plant kit, PCR follow thermo scientific instructions, gel agarose electrophoresis, sequencing, and data analysis using the bioinformatics program, namely BioEdit, BLASTn, and MEGA 6.0. The *matK* sequence of the kitolod plant obtained was 841 bp. The result showed that no identity value was found to reached 100%. The highest identity value (99.88%) was found in *H. longiflora* NC_035361.1. 34 nucleotide variations were found with one critical nucleotide for *H. longiflora* from Riau and six critical nucleotides for the *H. longiflora*. The *matK* DNA sequence from Kitolod Riau in this study is the first sequence reported in database GenBank.

Keywords: BLASTn, DNA barcode, *Hippobroma longiflora*, kitolod, *matK*, Riau.

Pendahuluan

Kitolod (*Hippobroma longiflora*) merupakan tumbuhan liar yang berasal dari famili Campanulaceae. Tumbuhan ini biasanya tumbuh di pinggir saluran air, sekitar pagar, pematang sawah, sela-sela bebatuan, dan tempat-tempat terbuka serta lembab (Nur'aeni *et al.*, 2022). Kitolod (*Isotoma longiflora*) selama ini dikenal sebagai gulma yang keberadaannya tidak diharapkan. Namun, Penelitian yang dilakukan Permana *et al.* (2022) menunjukkan bahwa metabolit sekunder tumbuhan kitolod memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antifungi, anti kanker, antiinflamasi antioksidan, dan juga mampu mengobati *glaucoma* dan *hyperlipidemia*. Masyarakat Riau memanfaatkan tumbuhan ini sebagai obat karena kemampuannya menyembuhkan penyakit. Bagian yang biasanya digunakan adalah bagian daun, batang, dan bunga yang diolah dalam bentuk perasan, rebusan, dan tumbukan

(Dalimartha, 2000). Rebusan daun kitolod sering digunakan untuk menyembuhkan rabun dan katarak pada mata (Lestari *et al.*, 2017).

Terlepas dari kenyataan bahwa tanaman ini telah banyak digunakan sebagai obat tradisional, informasi ilmiah terutama yang berbasis DNA dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora*) masih belum ditemukan. Informasi tersebut sangat penting terutama jika dikaitkan dengan upaya konservasi, survei ekologi, identifikasi takson-takson kriptik, konfirmasi sampel-sampel tanaman obat, dan untuk penelitian evolusi. Oleh karena itu diperlukan pengaplikasian dari teknik barcoding DNA dengan prinsip mengenali spesies pada tingkat molekuler menggunakan penanda molekuler terstandar pada sekuens DNA (Jannah *et al.* 2021).

Barkoding DNA diusulkan pertama kali oleh Hebert *et al.* (2003) dari Universitas Guelph, Kanada dengan tujuan mengidentifikasi

spesies hanya menggunakan sekuens dari gen tertentu yang cukup pendek yang disebut sebagai barkode DNA. Barkoding DNA dapat dianggap sebagai "kebangkitan taksonomi" (Miller, 2007). Barkode DNA adalah pendekatan efektif yang digunakan dalam autentikasi dan ketertelusuran makanan, misalnya, dalam makanan olahan dan suplemen gizi. Selain itu, dapat digunakan untuk mengidentifikasi varietas lokal atau asli yang menambah nilai pada tanaman atau produk, pada saat yang sama mempromosikan konsumsi sayuran, buah-buahan, dan tanaman aromatik yang ditanam secara lokal (Mokoagow *et al.*, 2015). Barkode DNA yang ideal yaitu (i) harus memiliki daerah mengapit yang dilestarikan untuk amplifikasi dan pengurutan yang mudah; (ii) diusahakan tidak melebihi 1 kb untuk memudahkan ekstraksi dan amplifikasi DNA; (iii) harus memiliki variasi interspesifik yang lebih tinggi daripada intraspesifik untuk resolusi tingkat spesies; dan (iv) dapat ditangani secara efisien dengan alat dan analisis bioinformatik (Khan *et al.*, 2019).

Kajian barkoding DNA pada tumbuhan dapat menggunakan daerah DNA dari genom nDNA seperti *18S rRNA*, *26S rRNA*, *ITS*, dan *adh*, dari genom cpDNA seperti *rbcL*, *psbA*, *ndhF*, *rpoc1* dan *matK* (Aulia, 2022). Namun, wilayah DNA yang sering digunakan untuk pembuatan barkode DNA adalah yang berasal dari DNA kloroplas (cpDNA) karena karakteristiknya yaitu ukuran genom yang kecil dan diturunkan secara uniparental. Genom kloroplas juga tidak mengalami rekombinasi sehingga kurang variatif jika dibandingkan dengan genom inti. (Aulia, 2022). Gen penyandi *maturase K (matK)* ialah salah satu kandidat barkode universal untuk mengidentifikasi tanaman yang telah direkomendasikan oleh *The Consortium for the Barcode of Life (CBOL)*.

Sekuens *matK* ialah sekuens yang mengkode protein maturase sub unit K. Gen ini memiliki sekuens yang variatif karena kecepatan evolusi yang tinggi, sehingga dapat dijadikan sebagai barkode DNA karena tingginya akurasi dalam mengidentifikasi dan membedakan spesies (Kolondam *et al.*, 2013). Kumar *et al.* (2016) menambahkan bahwa tingkat substitusi *matK* tinggi dengan rasio mutasi transisi:transversi yang rendah.

Penelitian ini perlu dilakukan untuk analisis barkode DNA tumbuhan kitolod asal Riau menggunakan gen *matK* yang berguna untuk pemuliaan, konservasi, dan penelitian keanekaragaman tanaman.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan pada Februari 2023 sampai Juni 2023 di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau.

Bahan Penelitian

Daun diambil dari dua individu tumbuhan kitolod yang tumbuh di Desa Tarai Bangun, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau, Indonesia. Daunnya digunakan untuk isolasi DNA total mengikuti protokol dari *Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid)*. Primer untuk proses amplifikasi adalah *matK-413f-1* dan *matK-1227r-3* (Heckenhauer *et al.*, 2016).

Ekstraksi DNA Total

Isolasi DNA total dari dua individu tanaman kitolod yang berbeda mengikuti prosedur kerja dari *Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid)*. Sampel daun seberat 0,2 gram dimasukkan ke dalam mortar dan ditambahkan nitrogen cair, lalu digerus dengan *pestle* hingga berbentuk serbuk. Serbuk daun dimasukkan ke dalam *mikrotube* 1,5 ml. Ekstraksi DNA selanjutnya mengikuti instruksi pabrik (*Geneaid*) (Sari, 2024). Elektroforesis DNA total dilakukan pada gel agarosa 1% yang ditambahkan 3 μ l larutan *ethidium bromide* (EtBr) di dalam 100 ml 1X TBE pH 8 dengan tegangan listrik 50 volt selama 40 menit. Lampu UV transilluminator digunakan untuk visualisasi Pita DNA total dan difoto menggunakan kamera berfilter UV (Sari, 2024).

Amplifikasi dengan Teknik PCR (*polymerase chain reaction*)

Instruksi pabrik *Thermo Scientific* digunakan sebagai acuan komponen dan Program PCR. Komponen PCR sebanyak 50 μ l, terdiri dari: 2 μ l DNA total, 1X buffer PCR (+Mg²⁺), 0,2 mM dNTPs, 0,5 μ M primer *forward*, 0,5 μ M primer *reverse*, 2 Unit *dreamTaq DNA polymerase*, dan ddH₂O untuk

menggunakan reaksi PCR. Proses PCR berlangsung dengan tahapan yaitu 5 menit pra PCR pada suhu 94°C, lalu 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 45 detik pada suhu 95°C, 45 detik *annealing* pada suhu 49,5°C dan 90 detik *elongasi* pada suhu 72°C. Pasca PCR pada suhu 72°C selama 10 menit. Keberhasilan PCR selanjutnya dideteksi dengan teknik elektroforesis gel agarosa. 2 µl sampel DNA produk PCR ditambahkan 2 µl *loading dye*, lalu dimasukkan ke dalam sumur. Selama 45 menit dilakukan elektroforesis pada tegangan listrik 50 volt. Lampu UV transilluminator digunakan untuk memvisualisasikan hasil PCR di bawah sinar UV, dan kamera dengan filter UV digunakan untuk mengambil foto.

Sekuensing

Sekuensing dilakukan di *First Base Laboratories*, Malaysia dengan cara mengirimkan produk PCR sebanyak 40 µl dan 30 µl masing-masing primer *forward* dan *reverse* yang ditutup rapat dengan bantuan parafilm ke PT. Genetika Science Indonesia sebagai perantara.

Analisis Data

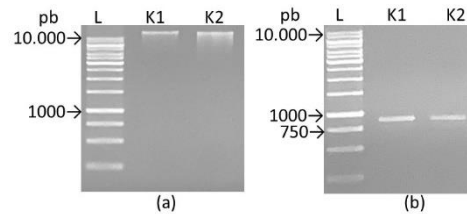
Program BioEdit versi 7.0 digunakan untuk analisis hasil sekuensing. Program BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool nucleotide*) digunakan untuk analisis data urutan nukleotida melalui website <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>. Pembuatan dendrogram dan matriks jarak genetik dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 11.

Hasil dan Pembahasan

Profil Pita DNA

DNA total tumbuhan kitolod yang diperoleh terlihat tebal, terang, dan berukuran besar yang menunjukkan DNA total yang utuh dan memiliki konsentrasi tinggi (Gambar 1). Hasil PCR yang divisualisasikan menggunakan agarosa menunjukkan adanya pita DNA tunggal dan tebal serta memiliki ukuran sekitar 900 pb (Gambar 1) yang berarti *matK* telah berhasil diamplifikasi. Hasil produk PCR yang telah diperoleh berada di antara panjang sekuens target (*matK*). Oleh karena itu, hasil kedua pita

DNA tersebut layak untuk dilakukan sekuensing.



Gambar 1. Profil (a) pita DNA total dan (b) produk PCR *matK*.

Sekuens *matK* Kitolod Asal Riau

Sekuens *matK* pada kedua sampel penelitian ini memiliki panjang 841 pb. Jumlah ampikon gen *matK* tumbuhan kitolod ialah <1000 pb. Hal ini menurut Wang *et al.*, (2017) akan memudahkan dalam *alignment* saat rekonstruksi pohon filogenetik. Kedua sekuens *matK* yang didapatkan pada penelitian ini dimasukkan pada database *GenBank* dengan nomor akses PP990566 dan PP990567 (Gambar 2). Sekuens tersebut selanjutnya dibandingkan similaritasnya dengan sekuens yang sudah ada di database *GenBank* dengan analisis BLASTn.

```
>PP990566 | Hippobroma longiflora DIR167 maturase
K (matK) gene, partial cds; chloroplast
AAAGATTTCGAATATACGCCCGAAGCGGTCAATAATCTCAGAATCTGAG
AAATCGATCCAAATGGCCTTACTAATAGGATGCCCTAATATATTACAAA
TTTGGCTTTAGCCAAGGATGAAATCAGGGGAATCATTTGGAAGAATAGTAT
CAAACCTCTTAATAGCATGATCGATTACAAAATGAAGTTTCTAACATTTGA
TTACGATCGTTGAAGTCTTTTCGCCGCACACTTGA AAAATAACCGAGAAA
GTC AAGGGAATGGTTTGCTAATTTGGTTTATATGGATTCTTCGTGGTTGAG
ACCAAAGGTCAAATAAGATTGCCAGAAATGACAAAGTAATATTTCCAT
TTATGCCATCAAAGAGACGTACCTTTTGATGCGAGAAATGGCTTTTCCTG
ATACCTAACATAATGCATGAAAGAGTCCCTTGAACATCCATAGATTGGCTT
CAAAGCCCGGCCAAGGTTTCTATAAGATGCTCTATTTTCCATAGAAA
TAGATTCTGTTCAAGAAGCGCTCTAAAAGATGTTGATCGTAAATGAAAAGA
TTGATTACGAAAGAACAAAGACGGATTTCGTTATTCATATACATGAAAAT
TATATAGGAAGAAGAAGATCTTTGATTTATTTCTGAAAAGAAGGACTG
ACTTTCTTTGAAGTAAGAAGACTATTCCAATTATGAAACTCGTGGAGAAA
GACTCTTAATAAATGCAAAGACGAAGCATCTTTTAGCCAGTAGCGAAGAG
CTTGCACCACGATTCGAGATGGATTGGGTAAGGTTATTAGGATATCGAAC
ACATAATTTAAATGTGAAACTTTGTCCTCTAAAAAAGGAAA

>PP990567 | Hippobroma longiflora DIR168 maturase
K (matK) gene, partial cds; chloroplast
AAAGATTTCGAATATACGCCCGAAGCGGTCAATAATCTCAGAATCTGAG
AAATCGATCCAAATGGCCTTACTAATAGGATGCCCTAATATATTACAAA
TTTGGCTTTAGCCAAGGATGAAATCAGGGGAATCATTTGGAAGAATAGTAT
CAAACCTCTTAATAGCATGATCGATTACAAAATGAAGTTTCTAACATTTGA
TTACGATCGTTGAAGTCTTTTCGCCGCACACTTGA AAAATAACCGAGAAA
GTC AAGGGAATGGTTTGCTAATTTGGTTTATATGGATTCTTCGTGGTTGAG
ACCAAAGGTCAAATAAGATTGCCAGAAATGACAAAGTAATATTTCCAT
TTATGCCATCAAAGAGACGTACCTTTTGATGCGAGAAATGGCTTTTCCTG
ATACCTAACATAATGCATGAAAGAGTCCCTTGAACATCCATAGATTGGCTT
CAAAGCCCGGCCAAGGTTTCTATAAGATGCTCTATTTTCCATAGAAA
TAGATTCTGTTCAAGAAGCGCTCTAAAAGATGTTGATCGTAAATGAAAAGA
TTGATTACGAAAGAACAAAGACGGATTTCGTTATTCATATACATGAAAAT
TATATAGGAAGAAGAAGATCTTTGATTTATTTCTGAAAAGAAGGACTG
ACTTTCTTTGAAGTAAGAAGACTATTCCAATTATGAAACTCGTGGAGAAA
GACTCTTAATAAATGCAAAGACGAAGCATCTTTTAGCCAGTAGCGAAGAG
CTTGCACCACGATTCGAGATGGATTGGGTAAGGTTATTAGGATATCGAAC
ACATAATTTAAATGTGAAACTTTGTCCTCTAAAAAAGGAAA
```

Gambar 2. Sekuens DNA *matK* *Hippobroma longiflora* asal Riau

Analisis Sekuens DNA *matK* Kitolod Asal Riau

Hasil analisis BLASTn menunjukkan bahwa sekuens *matK* dari sampel K1 dan K2 yang diperoleh pada penelitian ini memiliki nilai identiti berkisar antara 99,88%-98,10% dari 13 spesies teratas yang menandakan bahwa sekuens merupakan daerah *matK* (Tabel 1). Jannah *et al.*, (2021) menyatakan apabila tingkat homologi sekuens yang diperoleh dengan sekuens pada *GenBank* menunjukkan kompatibilitas yang tinggi antara 94-99%, maka sekuens yang diperoleh merupakan sekuens yang tepat. Hasil analisis penelitian ini menunjukkan belum ada akses di *database GenBank* yang mempunyai

nilai similaritas 100% dengan *Hippobroma longiflora* asal Riau. Hal ini mengindikasikan bahwa sekuens *matK* kitolod asal Riau belum pernah dilaporkan atau dipublikasikan di *database GenBank*. Menurut Roslim *et al.*, (2016) apabila tingkat similaritas sekuens DNA yang diteliti dengan *database* tidak mencapai 100%, maka kemungkinan yang terjadi adalah nama spesies tumbuhan yang dianalisis sudah diketahui tetapi pada *database GenBank* belum tersedia informasi sekuens barcode DNA nya. Oleh karena itu, sekuens DNA *matK* kitolod asal Riau pada penelitian ini ialah sekuens pertama yang dilaporkan pada *GenBank*.

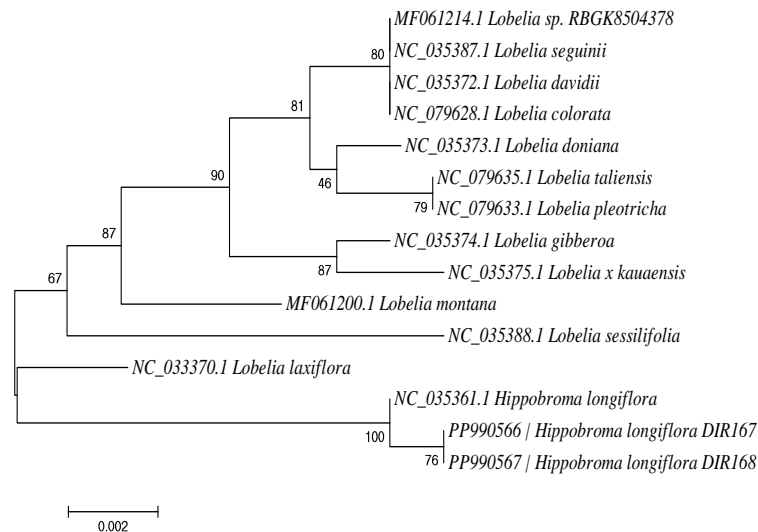
Tabel 1. Hasil analisis BLASTn pada sekuens *matK Hippobroma longiflora* asal Riau

No	Nama Ilmiah	Query Cover (%)	E-Value	Identiti (%)	Akses
1	<i>Hippobroma longiflora</i>	100	0,0	99,88	NC_035361.1
2	<i>Lobelia laxiflora</i>	100	0,0	98,81	NC_033370.1
3	<i>Lobelia montana</i>	100	0,0	98,45	MF061200.1
4	<i>Lobelia sp. RBGK8504378</i>	100	0,0	98,22	MF061214.1
5	<i>Lobelia sessilifolia</i>	100	0,0	98,22	NC_035388.1
6	<i>Lobelia seguinii</i>	100	0,0	98,22	NC_035387.1
7	<i>Lobelia gibberoa</i>	100	0,0	98,22	NC_035374.1
8	<i>Lobelia davidii</i>	100	0,0	98,22	NC_035372.1
9	<i>Lobelia taliensis</i>	100	0,0	98,22	NC_079635.1
10	<i>Lobelia pleotricha</i>	100	0,0	98,22	NC_079633.1
11	<i>Lobelia colorata</i>	100	0,0	98,10	NC_079628.1
12	<i>Lobelia x kauaensis</i>	100	0,0	98,10	NC_035375.1
13	<i>Lobelia doniana</i>	100	0,0	98,10	NC_035373.1

Cock *et al.* (2015) menyatakan ada beberapa parameter dalam analisis BLASTn digunakan untuk menentukan homologi sekuens sampel dengan sekuens *database* di *GenBank*. Pada hasil analisis BLASTn, berdasarkan tingkat homologinya sekuens organisme diurutkan dengan sekuens yang dianalisis dari homologi yang paling tinggi ke homologi paling rendah. Parameter tingkat homologi sekuens tersebut ialah *E-value* (tingkat probabilitas kemiripan suatu sekuens dengan sekuens yang dianalisis). Tingkat homologi semakin tinggi apabila *E-value* semakin kecil (Nugraha *et al.*, 2015). Parameter selanjutnya yaitu *max score* dimana nilai *max score* tinggi menunjukkan sekuens sampel memiliki similaritas yang tinggi

dengan sekuens *database* (Shofa *et al.* 2019). Parameter lainnya yaitu *Percent identity* yang menentukan similaritas sekuens sampel dengan spesies pada *GenBank*. Tingkat kemiripan dari sekuens yang disejajarkan semakin tinggi ditandai dengan tingginya *Percent identity*.

Ketigabelas sekuens tersebut (Tabel 1) bersama dengan sekuens sampel yang diteliti dianalisis dengan MEGA 11. Analisis filogenetik yang dipresentasikan dalam bentuk pohon filogenetik atau dendrogram menunjukkan bahwa kitolod asal Riau membentuk satu klade dengan *Hippobroma longiflora* NC_035361.1 dan terpisah dari genus *Lobelia* (Gambar 3).



Gambar 3. Dendrogram berdasarkan sekuens *matK* menggunakan analisis *Neighbor Joining Tree* dengan 1000 ulangan *bootstrap*.

Dendrogram di atas menggambarkan hubungan kekerabatan antar aksesori yang dianalisis. Menurut Astarini *et al.* (2021) kelompok organisme dianggap memiliki hubungan kekerabatan yang dekat jika memiliki kesamaan ciri morfologi dari nenek moyang yang sama dan nantinya akan membentuk grup monofiletik. Kontruksi dendrogram pada penelitian ini menggunakan metode *Neighbor Joining* dengan 1000 ulangan *bootstrap*. Menurut Priyadi *et al.* (2022) 1000 ulangan *bootstrap* bertujuan untuk meningkatkan akurasi hasil dendrogram. Dendrogram yang terbentuk juga menggambarkan adanya pemisahan yang jelas antara *Hippobroma longiflora* asal Riau dengan spesies dalam famili Campanulaceae yang lain. Pemisahan ini disebabkan karena adanya situs nukleotida spesifik yang mampu menjadi pembeda dari masing-masing spesies.

Variasi nukleotida sekuens *matK* pada penelitian ini terdapat 34 variasi nukleotida dan terdapat 1 nukleotida kritis untuk *H. longiflora* asal Riau dan enam nukleotida kritis untuk *H. longiflora* yang membedakan *H. longiflora* dengan aksesori lainnya (Tabel 2). Satu nukleotida, yaitu nukleotida nomor 838 dinyatakan sebagai nukleotida kritis untuk identifikasi kitolod (*H. longiflora*) asal Riau. Hal ini dikarenakan pada posisi tersebut, kitolod asal Riau memiliki nukleotida yang berbeda dibandingkan dengan aksesori yang dianalisis. Nukleotida kritis pada posisi ke-838 terjadi

karena mutasi substitusi transisi, yaitu G pada kitolod asal Riau dan A pada aksesori lain yang diteliti. Sementara itu, pada penelitian ini dijumpai enam nukleotida kritis untuk spesies *H. longiflora*, yaitu ATTAAC pada nukleotida ke-12, 380, 436, 554, 630, dan 820 sedangkan pada genus *Lobelia* urutan nukleotidanya GACGCT. Hasil tersebut mendukung gagasan bahwa teknik barkoding DNA dapat membantu dalam mengkonfirmasi status taksonomi suatu organisme berdasarkan perbedaan nukleotida pada posisi tertentu yang disebut dengan nukleotida kritis.

Sekuens *matK* mampu membedakan kitolod asal Riau dengan aksesori lain. Hal ini dikarenakan barkode tersebut memiliki variasi yang tinggi dalam bentuk substitusi. Variasi tersebut memunculkan nukleotida kritis yang menjadi ciri khas kitolod. Mutasi yang terdeteksi pada penelitian ini adalah substitusi berupa transisi dan transversasi. Menurut Wathon *et al.* (2023) variasi nukleotida pada suatu organisme dapat disebabkan karena adanya peristiwa mutasi. Mutasi ini menjadi faktor penentu timbulnya variasi genetik, hal ini menguntungkan untuk analisis filogenetik dan penentuan taksonomi suatu organisme. Jadi, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *matK* dapat digunakan sebagai barkode yang efisien untuk mengidentifikasi spesies kitolod asal Riau dan membedakannya dari spesies lain dalam famili Campanulaceae.

Kesimpulan

Sekuens *matK* tumbuhan kitolod (*H. longiflora*) asal Riau yang diperoleh berukuran 841 pb. Individu kitolod yang diteliti memiliki kemiripan paling tinggi dengan *Hippobroma longiflora* NC_035361.1 dengan nilai identiti

99,88%. Pada penelitian ini ditemukan 34 variasi nukleotida dengan satu nukleotida kritis untuk *H. longiflora* asal Riau dan enam nukleotida kritis untuk spesies *H. longiflora* NC_035361.1. Sekuens DNA *matK* kitolod asal Riau pada penelitian ini merupakan sekuens pertama yang dilaporkan pada *GenBank*.

Tabel 2. Variasi nukleotida dan nukleotida kritis pada sekuens *matK*

Akses	Nomor nukleotida (vertikal)																																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34					
PP990566 <i>Hippobroma longiflora</i> DIR167	A	G	G	A	G	A	A	T	T	G	T	G	C	T	G	A	A	T	T	A	T	A	C	G	T	A	A	C	G	T	C	G							
PP990567 <i>Hippobroma longiflora</i> DIR168			
NC_035361.1 <i>Hippobroma longiflora</i>				
NC_033370.1 <i>Lobelia laxiflora</i>	G	T	C	A	T	C	G	.	.	.	C	T	A				
MF061200.1 <i>Lobelia montana</i>	G	T	T	.	.	.	C	.	.	.	A	.	C	.	C	C	G	.	.	.	C	T	T	A				
MF061214.1 <i>Lobelia</i> sp. RBGK8504378	G	T	T	.	A	.	G	C	.	.	A	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	G	T	A			
NC_035388.1 <i>Lobelia sessilifolia</i>	G	T	.	.	G	.	G	.	A	.	A	.	C	.	.	C	G	.	.	.	C	T	T	.	.	C	T	A			
NC_035387.1 <i>Lobelia seguinii</i>	G	T	T	.	A	.	G	C	.	.	A	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	C	.	.	G	T	A		
NC_035374.1 <i>Lobelia gibberoa</i>	G	T	T	.	.	.	C	G	.	.	A	.	C	.	.	.	G	.	C	C	.	C	.	G	G	.	.	T	A		
NC_035372.1 <i>Lobelia davidii</i>	G	T	T	.	A	.	G	C	.	.	A	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	C	.	G	T	A	
NC_079635.1 <i>Lobelia taliensis</i>	G	T	T	.	.	.	C	.	A	T	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	C	.	G	G	.	A	T	A	
NC_079633.1 <i>Lobelia pleotricha</i>	G	T	T	.	.	.	C	.	A	T	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	C	.	G	G	.	A	T	A	
NC_079628.1 <i>Lobelia colorata</i>	G	T	T	.	A	.	G	C	.	.	A	.	C	T	.	.	G	.	C	.	.	C	.	G	T	A
NC_035375.1 <i>Lobelia x kauensis</i>	G	T	T	.	.	.	C	G	.	.	A	.	C	.	.	G	.	C	.	G	C	.	G	C	.	.	G	C	G	.	.	.	T	A	
NC_035373.1 <i>Lobelia doniana</i>	G	T	T	.	A	.	C	.	.	A	.	C	T	.	.	G	G	C	.	C	.	G	G	.	A	T	A

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada LPPM Universitas Riau yang telah memfasilitasi penelitian ini. Penelitian ini dibiayai oleh Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia melalui Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRTPM) melalui Hibah Penelitian Fundamental Reguler Tahun 2023.

Referensi

Astarini, I.A., Ardiana, S.A., Putra, I.N.G., Pertiwi, P.D., Sembiring, A., Yusmalinda, A., & Al Malik, D. (2021). Genetic diversity and phylogenetic of longtail tuna (*Thunnus tonggol*) landed in Pabean Fish Market, Surabaya. *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 3(2), 107–115. <https://doi.org/10.35724/mfmj.v3i2.3375>

Aulia, A. (2022). Studi in silico potensi DNA barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk identifikasi variasi genetic *Opuntis* sp. *Jurnal Syntax Admiration*, 3(11), 1383-1394. <https://doi.org/10.46799/jsa.v3i11.512>

Cock, P. J., Chilton, J. M., Grüning, B., Johnson, J. E., & Soranzo, N. (2015). NCBI BLAST+ integrated into galaxy. *Gigascience*, (1), 39. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0080-7>

Dalimartha, S. (2000). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & de Waard, J.R. (2003). Biological identification through DNA barcodes. Di dalam: *Proceedings of the Royal Society of London*. London. Hlm 313-322.

Jannah, M., Hariri, M.R., Kasiamdari, R.S., & Handayan, N.S.N. (2021). The use of DNA barcoding and phylogenetic analysis to improve identification of *Usnea* spp. based on *ITS rDNA*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(1), 1-12. <https://doi.org/10.22146/jtbb.58635>

Khan, S.A., Baeshen, M.N., Ramadan, H.A., & Baeshen, N.A. (2019). *ITS2*: An ideal DNA barcode for the arid medicinal plant *Rhazya stricta*. *Pharmaceutical Medicine*, 33(1), 53-61.

- <https://doi.org/10.1007/s40290-019-00266-3>
- Kolondam, B.J., Lengkong, E., Polii-Mandang, J., Samuel, R., & Pinaria, A. (2013). Barcode DNA *Anthurium Gelombang Cinta* (*Anthurium plowmanii*) berdasarkan gen *rbcL* dan *matK*. *Jurnal Bios Logos*, 3(1), 17-25. <https://doi.org/10.35799/jbl.3.1.2013.3385>
- Kumar, R., Mahadani, P., Kishore, R., Meitei, A. L., & Singh, D.R. (2016). DNA barcoding of Indian orchids. *Technical Bulletin*. No. 48.
- Lestari Dewi, N.K., Mohammad, J., & Isnainar. (2017). Kajian pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional di Desa Tolai Kecamatan Torue Kabupaten Parigi Moutong. *JIP BIOL*, 5(2), 92-108. <https://doi.org/10.22487/ejipbiol.v5i2.9372>
- Miller, S.E. (2007). DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:4775–4781.
- Mokoagow, B.L., Fatimaha, F., & Kumaunanga, M. (2015). Penentuan barcode DNA berdasarkan gen *matK* dan analisis in-silico *matK* rumput macan (*Lantana camara* L.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 4 (1), 24-28. <https://doi.org/10.35799/jm.4.1.2015.6900>
- Nugraha, F., Roslim, D.I., Ardilla, Y.P., Herman. (2014). Analisis Sebagian sekuen gen Ferritin2 pada Padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau. *Biosaintifika*, 6(2), 94-103. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v6i2.3102>
- Nur'aeni, F., Ratnadewi, D., Sumaryono. 2022. Regenerasi Tanaman Kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) pada kultur in vitro. *Jurnal Sumberdaya HAYATI*, 8(1), 14-19. <https://doi.org/10.29244/jsdh.10.4>
- Permana, A., Aulia, S.D.A., Azizah, N.N., Ruhdiana, T., Suci, A.E., Izzah, I.N.L., Agustin, A.N., & Wahyudi, S.A. (2022). Artikel review: Fitokimia dan farmakologi tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora* Presl). *Jurnal Buana Farma*, 2(3), 22-35. <https://doi.org/10.36805/jbf.v2i3.547>
- Priyadi, A., Asih, N.P.S., & Erlinawati, I. (2022). Reconstructing phylogenies of *Alocasia* spp. (Araceae) distributed in Indonesia for conservation prioritization: Reconstructing phylogenies of *Alocasia* spp. (Araceae). *Journal of Tropical Life Science*, 12(3), 317– 323. <https://doi.org/10.11594/jtls.12.03.04>
- Roslim, D.I., Khumairoh S., & Herman. (2016). Confirmation of tuntun angin (*Elaeocarpus floribundus*) taxonomic status using *matK* and *ITS* sequences. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 8(3), 392-399. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v8i3.7406>
- Shofa, A.F., Hariyanti., & Wahyudi, P. (2019). Penggunaan DNA mitokondria sebagai penanda sumber gelatin sediaan gummy dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* dan sekuensing DNA. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(1), 25-31. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.1.25-31.2019>
- Wang, D-Y., Wang, Q., Wang, Y-L., Xiang, X-G., Huang, L-Q., & Jin, XH. (2017). Evaluation of DNA barcodes in *Codonopsis* (Campanulaceae) and in some large angiosperm plant genera. *PLoS ONE*, 12(2), 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170286>
- Wathon, S., Astikaningrum, D., Ardyah, N.P.C., Oktarianti, R., & Senjarini, K. (2023). In silico exploration of the potential barcode DNA in *Anopheles* sp., a malarian vector from Indonesia. *Jurnal Biolokus: Jurnal Penelitian Pendidikan Biologi dan Biologi*, 6(1), 96-110. <https://doi.org/10.30821/biolokus.v6i1.1749>