

## Evaluasi Lokus Kloroplas untuk DNA Barcoding pada Marga *Stelechocarpus* (Annonaceae) Secara *In-Silico*

### *In-silico evaluation of Chloroplast loci for DNA Barcoding on Genus Stelechocarpus (Annonaceae)*

Turhadi<sup>✉</sup>, Luchman Hakim

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

<sup>✉</sup>Corresponding author email: turhadibiologi@ub.ac.id

**Article history:** submitted: December 5, 2022; accepted: March 2, 2023; available online: March 31, 2023

**Abstract.** *Stelechocarpus* is a genus belonging to the Annonaceae family that grows in the Asia-Pacific region. As a plant that is not well known to the public, conservation efforts are needed because the *Stelechocarpus* has many benefits in pharmaceutical and cosmetics. One of the strategies to support conservation efforts is DNA barcoding, which has little information for the *Stelechocarpus*. This study aimed to evaluate chloroplast loci that can be used as DNA barcodes for the member of genus *Stelechocarpus* using in-silico approach. This research was conducted in-silico by extracting chloroplast loci sequences including *rbcL*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, and *ndhF* which are available in the NCBI database. The results showed that only 18 sequences of chloroplast loci were obtained from two species of *Stelechocarpus* genera, including *S. burahol* and *S. cauliflorus*. The *psbA-trnH* and *ndhF* loci indicated that they can be used as markers for genetic diversity studies on *S. burahol*. On the other hand, the *rbcL*, *trnL-F*, and *matK* loci indicated they could be used for genetic diversity studies on *Stelechocarpus* genera.

**Keywords:** conservation; *S. burahol*; *S. cauliflorus*

**Abstrak.** *Stelechocarpus* merupakan salah satu genus anggota famili Annonaceae yang tumbuh di kawasan Asia-Pasifik. Sebagai salah satu tumbuhan yang kurang dikenal oleh masyarakat maka perlu adanya upaya konservasi karena jenis *Stelechocarpus* mempunyai banyak manfaat di bidang farmasi dan kosmetika. Salah satu strategi mendukung upaya konservasi yaitu dengan DNA barcoding yang masih sedikit informasinya untuk jenis *Stelechocarpus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi lokus daerah kloroplas secara in-silico yang dapat digunakan sebagai DNA barcode anggota genus *Stelechocarpus* (Annonaceae). Penelitian ini dilakukan secara in-silico dengan mengekstrak sekuen penanda kloroplas meliputi *rbcL*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF* yang terdapat pada pangkalan data NCBI. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa hanya diperoleh 18 nomor sekuen lokus kloroplas dari dua jenis pada genus *Stelechocarpus*, meliputi *S. burahol* dan *S. cauliflorus*. Lokus *psbA-trnH* dan *ndhF* mengindikasikan dapat digunakan sebagai penanda untuk studi keragaman genetik pada *S. burahol*. Di sisi lain, lokus *rbcL*, *trnL-F*, dan *matK* mengindikasikan dapat digunakan untuk studi keragaman genetik pada genus *Stelechocarpus*.

**Kata kunci:** konservasi; *S. burahol*; *S. cauliflorus*

## PENDAHULUAN

Konservasi genetik merupakan upaya konservasi suatu organisme untuk meminimalkan resiko kepunahan serta ancaman terjadinya penurunan populasi yang dapat terjadi melalui proses genetik dan evolusi (Kramer & Havens, 2009; Willi et al., 2022). Terjadinya penurunan variasi genetik di dalam suatu populasi menjadi ancaman kepunahan bagi suatu organisme. Upaya konservasi melalui pendekatan genetik ini contohnya telah dilakukan pada beberapa jenis tumbuhan, misalnya: *Taxus sumatrana* (Rachmat et al., 2016), Bornean *Melastoma* (Cai et al., 2019), anggrek (Phillips et al., 2020), *Paeonia decomposita* (Wang, 2020),

*Physaria filiformis* (Edwards et al., 2021). Kajian variasi genetik suatu organisme di alam merupakan strategi yang efektif untuk mengonservasi organisme langka dan terancam punah (Minter et al., 2021). Menurut Willi et al. (2022), konservasi genetik berperan dalam membantu pengelolaan jenis yang terancam melalui strategi identifikasi populasi dan jenis.

Sebagai salah satu tumbuhan langka atau jarang ditemukan sehingga diperlukan upaya konservasi, misalnya *S. burahol* yang mempunyai banyak potensi (Soeroto et al., 2018). Berbagai penelitian melaporkan bahwa *S. burahol* berpotensi sebagai sumber antioksidan (Tisnadjaja et al., 2006; Suwandi

et al., 2012), penghilang bau (Darusman et al., 2012), salep luka bakar (Ladeska et al., 2022), dan anti-mikroba (Amin et al., 2018). Selain itu, *S. burahol* juga merupakan tumbuhan identitas Daerah Istimewa Yogyakarta berdasarkan Keputusan Gubernur Kepala DIY No. 385/KPTS/1992 (DLHK DIY 2019). Meskipun jenis (spesies) *Stelechocarpus* mempunyai banyak potensi dalam bidang farmasi dan kosmetika, sejauh ini masih belum ada laporan potensi jenis lain *Stelechocarpus* selain *S. burahol*. Jenis *Stelechocarpus* juga belum termasuk ke dalam jenis tumbuhan yang dilindungi oleh pemerintah RI (Peraturan Menteri LHK RI No.P.106/MENLHK/SETJEN/KUM.1/12/2018), sehingga upaya konservasi sangat diperlukan mengingat *Stelechocarpus* merupakan salah satu tumbuhan yang tidak dibudidayakan dan kurang dikenal oleh masyarakat. Salah satu strategi yang dapat digunakan untuk mendukung upaya konservasi *S. burahol* yaitu melalui studi keragaman genetik.

Indonesia sebagai wilayah dengan keragaman tumbuhan yang tinggi dilaporkan juga menjadi habitat *Stelechocarpus*. Jenis *Stelechocarpus* yang terdapat di Indonesia yaitu *S. burahol* (kepel) dan *S. cauliflorus* yang tumbuh di wilayah Jawa, Kalimantan, dan Sumatera, sedangkan jenis *S. expansus* dilaporkan hanya ditemukan di wilayah Thailand (Turner, 2018). Di antara ketiga jenis *Stelechocarpus* yang terdapat di Indonesia, *S. burahol* adalah jenis yang banyak dijumpai di pulau Jawa. Namun, sejauh ini masih sedikit penelitian yang melaporkan keragaman genetik jenis *Stelechocarpus* di pulau Jawa. Sebagai langkah awal untuk mengetahui populasi *Stelechocarpus* dapat digunakan strategi identifikasi menggunakan pendekatan *DNA barcoding*.

*DNA barcoding* merupakan teknik karakterisasi suatu organisme menggunakan bagian pendek DNA tertentu dari sebuah genom (Li et al., 2015). Hingga saat ini, *DNA barcoding* telah banyak digunakan di dalam riset botani untuk tujuan ekologi, evolusi, dan

konservasi (Kress, 2017). Meskipun telah luas penggunaan *DNA barcoding*, saat ini masih belum ada lokus yang dapat digunakan pada lintas semua jenis tumbuhan (Li et al., 2015). Pada tumbuhan, DNA plastida (lokus: *rbcL*, *matK*, *trnL*, dan *trnH-psbA*) dan DNA inti (lokus: *ITS* dan *ITS2*) sering digunakan di dalam DNA barcoding (Nagarajan et al., 2020; Cahyaningsih et al., 2022). Daerah *matK*, *rbcL*, *trnL-F*, *ndhF*, *ndhF-rpl32*, *rpl32-trnL*, *ycf1*, *psbA-trnH spacer*, *atpB-rbcL spacer*, *trnL intron*, dan *trnS-trnG intergenic spacers* telah digunakan sebagai *DNA barcode* pada Annonaceae (Su et al., 2008; Xue et al., 2014; Larranaga & Hormaza, 2015; Lestari et al., 2018; Chaowasku, 2020). Sebagai anggota Annonaceae, masih belum banyak artikel ilmiah yang melaporkan *DNA barcoding* untuk jenis-jenis tumbuhan dari genus *Stelechocarpus*. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengevaluasi lokus daerah kloroplas secara *in-silico* yang dapat digunakan sebagai *DNA barcode* anggota genus *Stelechocarpus* (Annonaceae). Informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat bermanfaat untuk melakukan studi keragaman genetik jenis-jenis di dalam genus *Stelechocarpus* dengan penanda DNA yang sesuai dan mendukung strategi konservasinya.

## METODE

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan mengekstrak data sekuen pada lokus *rbcL*, *trnL-trnF*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF* dari jenis-jenis anggota genus *Stelechocarpus* yang terdapat di bank gen NCBI (Tabel 1). Sekuen DNA ditelusuri melalui laman bank gen NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan kata kunci berupa genus *Stelechocarpus* yang diikuti oleh nama gen, misalnya: *Stelechocarpus rbcL*. Untuk analisis lebih lanjut, sekuen DNA dari masing-masing jenis dan gen target disimpan dalam format FASTA. Seluruh sekuen yang diperoleh selanjutnya disejajarkan secara *Multiple Sequence Alignment* (MSA) menggunakan ClustalW pada perangkat lunak Geneious Prime® 2021.1.1 (Biomatters

Ltd, New Zealand). Analisis filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* dengan bootstrap 1000x.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

*Stelechocarpus* adalah salah satu genus anggota dari famili Annonaceae. Annonaceae terdiri dari 106 genus dan 2400 jenis yang mayoritas tumbuh di daerah tropis (Simpson, 2019). Terdapat 110 jenis dan 40 genus pada famili Annonaceae yang ditemukan di wilayah Asia-Pasifik. Diantara 40 genus tersebut terdapat beberapa jenis *Stelechocarpus* yang ditemukan di wilayah Asia-Pasifik, meliputi *Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f. & Thomson, *Stelechocarpus cauliflorus* (Scheff.) R.E.Fr., dan *Stelechocarpus expansus* (Chaowasku) I.M.Turner (Turner, 2018).

Hasil penelusuran sekuen gen dari *database* yang dijadikan sebagai *DNA barcoding* daerah kloroplas pada genus *Stelechocarpus* yaitu lokus *rbcL*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF*. Berdasarkan kelima lokus penanda tersebut hanya diketahui terdapat pada 2 jenis anggota genus *Stelechocarpus*, meliputi *S. burahol* dan *S. cauliflorus*. Total sekuen daerah kloroplas (*rbcL*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF*) pada kedua jenis tersebut sebanyak 18 nomor

aksesi berdasarkan *database* NCBI. Panjang nukleotida kelima daerah penanda kloroplas tersebut yaitu 1371-1395, 895-980, 803, 828, 359-428, dan 1990-2033 pb, masing-masing untuk *rbcL*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF* (Tabel 1).

Hasil pengurutan pada sekuen *rbcL* menunjukkan terdapat 11 posisi basa yang berbeda antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* (Tabel 2). Sebelas daerah pembeda pada penanda *rbcL* ini merupakan daerah-daerah yang mengalami mutasi titik. Berbeda dengan *rbcL*, penanda *trnL-F* memperlihatkan perbedaan pada 5 daerah antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* (Tabel 3). Pada penanda *trnL-F* mengindikasikan perbedaan intra dan inter-spesies antar *Stelechocarpus* yang dianalisis. Perbedaan intra-spesies *S. burahol* ditunjukkan pada daerah basa ke-550-556. Di samping itu, perbedaan inter-spesies antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* ditunjukkan oleh adanya daerah insersi delesi (InDel) pada basa ke-744-751. Selain adanya InDel sebagai pembeda penanda *trnL-F* antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* juga dijumpai 2 daerah mutasi titik (basa ke-164 dan ke-832 dan 1 daerah mutasi segmen (basa ke-584-585). Serupa dengan *rbcL*, penanda *matK* antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* menunjukkan 9 daerah berbeda dengan tipe mutasi titik (Tabel 4).

**Tabel 1.** Daftar sekuen yang digunakan dalam penelitian ini

Jenis	ID Genbank NCBI					Panjang nukleotida (pb)				
	<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>matK</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>ndhF</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>MatK</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>ndhF</i>
<i>S. burahol</i>	AY319053.1	AY319167.1	AY518803.1	JX544788.1	JX544775.1	1395	972	828	428	2033
	MT040237.1	MT040248.1	MT040202.1	MT040225.1	JQ723814.1	1371	895	803	377	2030
				KF709067.1	MT040213.1				359	1990
<i>S. cauliflorus</i>	AY319054.1	AY319168.1	AY518800.1	JX544789.1	JX544776.1	1395	980	828	428	2033
					KF682123.1					2032

**Tabel 2.** Perbedaan nukleotida pada lokus *rbcL* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

Sampel	Nukleotida urutan ke-											
	33	392	582	631	720	752	951	1090	1308	1348	1381	
SbrbcL_AY319053.1	G	T	T	A	G	A	G	T	G	A	A	
SbrbcL_MT040237.1	G	T	T	A	G	A	G	T	G	A	A	
ScrbcL_AY319054.1	A	C	C	G	A	G	T	C	A	G	G	

Seperti halnya *trnL-F*, penanda *psbA-trnH* juga memperlihatkan kemampuan dalam

membedakan intra- dan inter-spesies *Stelechocarpus*. Terdapat 12 daerah yang

menunjukkan sifat polimorfisme antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* yang dianalisis (Tabel 5). Sembilan daerah merupakan mutasi titik dan 3 daerah merupakan mutasi segmen. Urutan basa ke-52 menunjukkan perbedaan intra-spesies *S. burahol*, sedangkan 8 daerah mutasi titik lainnya mampu membedakan antara spesies *S. burahol* dan *S. cauliflorus*. Tiga daerah mutasi segmen juga mengindikasikan mampu menunjukkan variasi antar *S. burahol* yaitu basa ke-134-137, ke-139-143, dan ke-145-148.

Terdapat 36 daerah penanda *ndhF* yang menunjukkan adanya perbedaan antara lima sampel *Stelechocarpus* yang dianalisis. Variasi sekuen terdiri dari 34 mutasi titik dan 2 mutasi segmen (Tabel 6A-B). Nukleotida urutan ke- 149-150, 238, 299, 528, 795, 1103,

1119, 1145, 1178, 1284, 1363, 1404, 1406, 1577, 1644, 1717, 1766, 1835, 1862, 1990, dan 1998 merupakan daerah yang dapat membedakan *S. burahol* dengan *S. cauliflorus*.

Hubungan filogenetik antara *S. burahol* dan *S. cauliflorus* memperlihatkan adanya variasi clade diantara penanda lokus kloroplas yang digunakan dalam penelitian ini. Secara konsisten penanda *rbcL*, *trnL-F*, dan *matK* menunjukkan bahwa *S. burahol* berbeda clade dengan *S. cauliflorus* (Gambar 1A-C). Di sisi lain, penanda *psbA-trnH* dan *ndhF* memperlihatkan clade yang lebih variatif yaitu 3 clades dibandingkan marka *rbcL*, *trnL-F*, dan *matK*. Variasi intra-spesies *S. burahol* ditunjukkan oleh penanda *psbA-trnH* dan *ndhF* menjadi dua clades (Tabel 7).

**Tabel 3.** Perbedaan basa pada lokus *trnL-F* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

Sampel	Nukleotida urutan ke-				
	164	550-566*	584-585	744-751*	832
SbtrnL-F_AY319167.1	T	TCGTGAGGGGTTCAAGTC	AA	-----	A
SbtrnL-F_MT040248.1	T	NNNNNNNNNN	AA	-----	A
SctrnL-F_AY319168.1	A	TCGTGAGGGGTTCAAGTC	GG	TACGTGCA	G

\*)N = A/G/C/T; ---- = tidak ada

**Tabel 4.** Perbedaan basa pada lokus *matK* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

Sampel	Nukleotida urutan ke-								
	179	237	487	512	579	625	635	668	711
SbMatK_AY518803.1	C	T	A	G	G	C	T	C	T
SbMatK_MT040202.1	C	T	A	G	G	C	T	C	T
ScMatK_AY518800.1	G	G	C	A	A	T	C	T	C

**Tabel 5.** Perbedaan basa pada lokus *psbA-trnH* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

Sampel	Nukleotida urutan ke-											
	52	102	110	134-137	139-143	145-148	150	194	215*	255	356	370
SbpsbA-trnH_JX544788.1	C	A	A	AACG	CTCTC	ACAA	G	T	G	G	A	T
SbpsbA-trnH_KF709067.1	A	A	A	TTGT	GAGAG	CGTT	G	T	G	G	A	T
SbpsbA-trnH_MT040225.1	C	A	A	AACG	CTCTC	ACAA	G	T	G	G	A	T
ScpsbA-trnH_JX544789.1	C	G	T	AACG	CTCTC	ACAA	T	A	R	A	G	G

\*)R = G/A

Selain menggunakan karakteristik morfologi, identifikasi tumbuhan juga dapat dilakukan menggunakan sekuen DNA. *DNA barcoding* sebagai salah satu alat bantu identifikasi tumbuhan telah banyak

diaplikasikan saat ini. Secara umum, identifikasi tumbuhan melalui *DNA barcoding* secara luas didasarkan pada lokus kloroplas, misalnya *rbcL*, *trnL-trnF*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF*. Selain didasarkan pada

lokus kloroplas, DNA barcoding tumbuhan juga dapat dilakukan menggunakan daerah lokus inti. Sebagai salah satu tumbuhan yang persebaran secara global hanya terbatas pada wilayah Asia tenggara (Indonesia, Malaysia, dan Thailand) (Turner, 2018) dan kurang dikenal masyarakat, menjadikan *Stelechocarpus* jarang dikaji pada level keragaman genetiknya.

Sebagai salah satu kajian pendahuluan untuk mengetahui keragaman genetik *Stelechocarpus* maka perlu dilakukan penentuan lokus penanda yang sesuai untuk marga ini. Hasil studi secara *in-silico* menunjukkan jika data sekuen lokus kloroplas untuk jenis *Stelechocarpus* masih sangat terbatas yaitu hanya ditemukan 18 sekuen dari 5 daerah/lokus kloroplas untuk 2 jenis *Stelechocarpus* (Tabel 1). Berdasarkan hal ini masih ada peluang besar untuk

melakukan eksplorasi keragaman genetik *Stelechocarpus*, misalnya di wilayah Indonesia.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan juga mengindikasikan jika dari 5 lokus daerah kloroplas terbagi menjadi 2 jenis penanda untuk *Stelechocarpus*, yaitu (1) penanda DNA untuk studi *S. burahol* pada level jenis (intra-spesies) dan (2) penanda DNA untuk studi identifikasi jenis dalam genus *Stelechocarpus* (Tabel 2-7; Gambar 1). Penanda DNA untuk studi *S. burahol* pada level jenis (intra-spesies), meliputi *psbA-trnH* (Tabel 5&7; Gambar 1D) dan *ndhF* (Tabel 6-7; Gambar 1E). Lokus *psbA-trnH* merupakan daerah yang mempunyai frekuensi InDel yang tinggi sehingga lokus dapat digunakan sebagai *DNA barcode* pada level jenis (Li et al., 2015).

**Tabel 6A.** Perbedaan basa pada lokus *ndhF* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

Sampel	Nukleotida urutan ke-																
	51-52*	56	74*	84*	88*	91*	94*	111*	149-150	238	299	528	795	999*	1012*	1015*	1021*
SbndhF_JQ723814.1	AA	C	T	T	T	T	G	T	TG	C	C	T	C	T	T	T	T
SbndhF_JX544775.1	AA	C	Y	Y	K	W	K	Y	TG	C	C	T	C	K	K	K	K
SbndhF_MT040213.1	AA	C	T	T	T	T	G	T	TG	C	C	T	C	T	T	T	T
ScndhF_JX544776.1	MM	T	T	T	T	T	G	T	CA	T	T	C	A	T	T	T	T
ScndhF_KF682123.1	AA	T	T	T	T	T	G	T	CA	T	T	C	A	T	T	T	T

\*)Y = C/T; K = G/T; W = A/T; M = A/C

**Tabel 6B.** Perbedaan basa pada lokus *ndhF* dari *S. burahol* (Sb) dan *S. cauliflorus* (Sc)

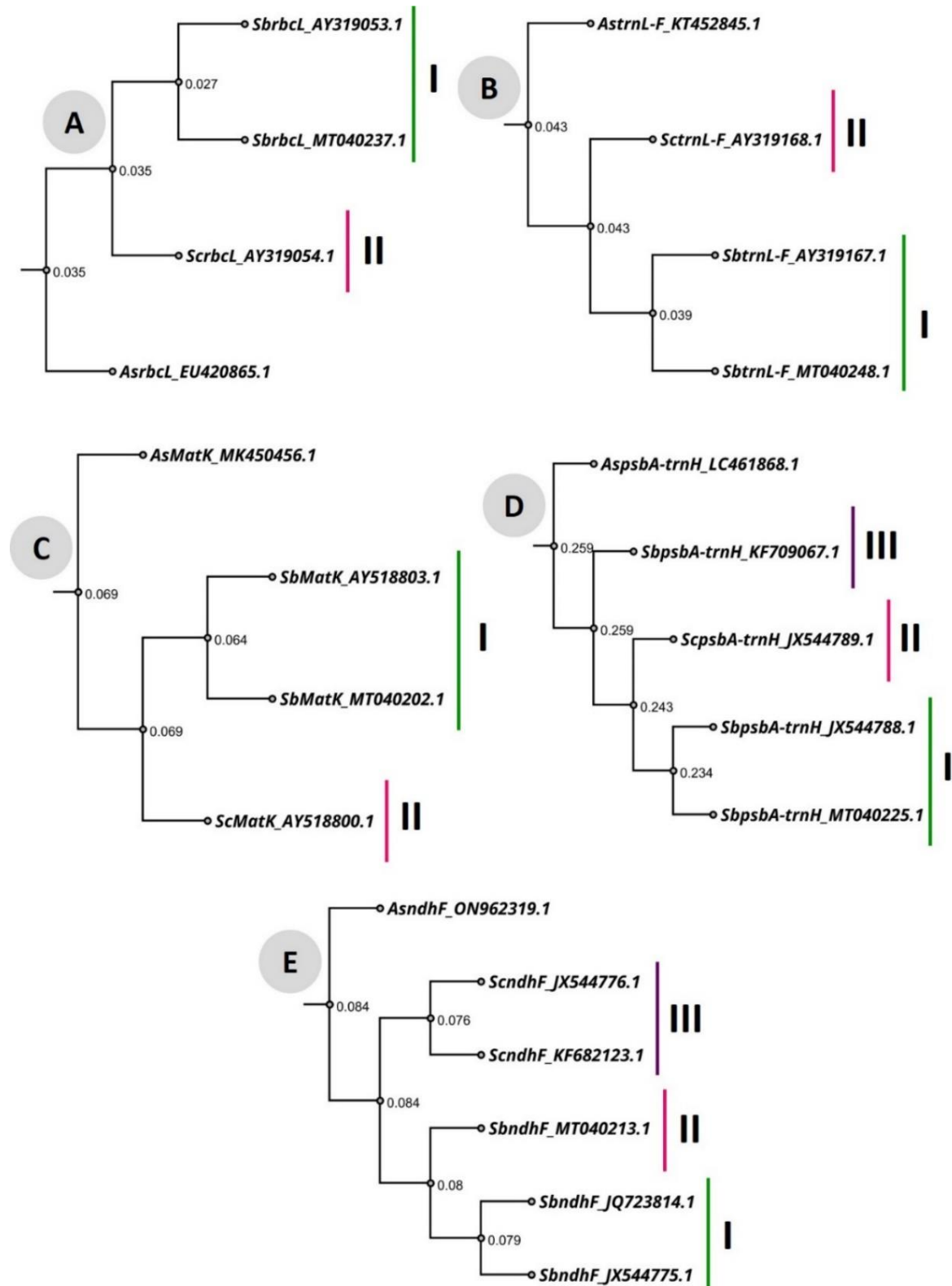
Sampel	Nukleotida urutan ke-																		
	1036-1067*	1103	1119	1145	1178	1284	1363	1404	1406	1577	1644	1717	1766	1835	1862	1894	1990	1998	2020
SbndhF_JQ723814.1	TTATTCATTCAATGGAATCT ATTGTTGGCTAT	C	G	A	T	C	C	C	G	A	G	G	G	A	G	C	A	T	T
SbndhF_JX544775.1	KNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN	C	G	A	T	C	C	C	G	A	G	G	G	A	G	C	A	T	T
SbndhF_MT040213.1	TTATTCATTCAATGGAATCT ATTGTTGGCTAT	C	G	A	T	C	C	C	G	A	G	G	G	A	G	C	A	T	T
ScndhF_JX544776.1	TTATTCATTCAATGGAATCT ATTGTTGGCTAT	T	A	T	C	A	T	T	A	T	A	T	A	G	T	A	T	C	W
ScndhF_KF682123.1	TTATTCATTCAATGGAATCT ATTGTTGGCTAT	T	A	T	C	A	T	T	A	T	A	T	A	G	T	A	T	C	T

\*)W = A/T; N = A/G/C/T

**Tabel 7.** Pengelompokan *Stelechocarpus* berdasarkan lokus *rbcl*, *trnL-trnF*, *matK*, *psbA-trnH*, dan *ndhF*

Lokus	Jenis	
	<i>S. burahol</i>	<i>S. cauliflorus</i>
<i>rbcl</i>	I	II
<i>trnL-F</i>	I	II
<i>matK</i>	I	II
<i>psbA-trnH</i>	I & III	II
<i>ndhF</i>	I & II	III





**Gambar 1.** Pohon filogenetik *Stelechocarpus* berdasarkan lokus *rbcL* (A), *trnL-trnF* (B), *matK* (C), *psbA-trnH* (D), dan *ndhF* (E). Konstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan bootstrap 1000x. Sebagai *outgroup* digunakan *Annona squamosa* (Annonaceae).

Selain itu, penanda DNA untuk studi identifikasi jenis dalam genus *Stelechocarpus*, meliputi *rbcL* (Tabel 2&7; Gambar 1A), *trnL-F* (Tabel 3&7; Gambar 1B), dan *matK* (Tabel 4&7; Gambar 1C). Meskipun *rbcL* telah secara luas digunakan untuk DNA barcoding pada tanaman darat, tetapi lokus *rbcL* hanya bisa digunakan pada level famili dan genus. Untuk level jenis, lokus *rbcL* tidak dapat digunakan (Li et al., 2015). Penelitian pada *Opuntia* sp. (Cactaceae) juga menunjukkan bahwa lokus *rbcL* dan *matK* memiliki homologi yang tinggi antar jenis sehingga tidak dapat digunakan untuk membedakan sampai pada level jenis (Aulia, 2022). Lokus *trnL-F* dan *matK* juga mengindikasikan jika memiliki homogenitas yang tinggi dan tidak dapat digunakan untuk membedakan antar jenis *Ixora* sp. (Rubiaceae) (Anzani et al., 2021). Keterbatasan jumlah sekuen untuk jenis *Stelechocarpus* yang tersedia di database sehingga masih terbuka lebar kesempatan untuk melakukan eksplorasi dan inventarisasi di masa depan. Meskipun begitu, berdasarkan studi yang dilakukan ini mengindikasikan bahwa terdapat potensi lokus kloroplas yang dapat digunakan untuk studi lebih lanjut pada jenis-jenis *Stelechocarpus*.

## SIMPULAN

Berdasarkan kelima marka lokus kloroplas mengindikasikan jika daerah *psbA-trnH* dan *ndhF* dapat digunakan sebagai penanda untuk studi keragaman genetik pada *S. burahol* dan daerah *rbcL*, *trnL-F*, dan *matK* digunakan untuk studi keragaman genetik pada genus *Stelechocarpus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A., Radji, M., Mun'im, A., Rahardjo, A., & Suryadi, H. (2018). Antimicrobial activity of ethyl acetate fraction from *Stelechocarpus burahol* fruit against oral bacteria and total flavonoids content. *Journal of Young Pharmacists*, 10(2), s97–s100.  
<https://doi.org/10.5530/jyp.2018.2s.19>
- Anzani A. N, Martiansyah I, Yuliani N. 2021. Studi *in silico* DNA barcoding pada bunga soka (*Ixora*). Di dalam: *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*. Gowa, 08 Nov. 2021. Hlm 168-177.
- Aulia, A. (2022). Studi *in silico* potensi DNA barcode berbasis DNA kloroplas (cpDNA) untuk identifikasi variasi genetik *Opuntis* sp. *Jurnal Syntac Admiration*, 3(11), 1383–1394.
- Cahyaningsih, R., Compton, L. J., Rahayu, S., Brehm, J. M., & Maxted, N. (2022). DNA barcoding medicinal plant species from Indonesia. *Plants*, 11(10), 1–22.  
<https://doi.org/10.3390/plants11101375>
- Cai, Y., Wang, F., Tan, G., Hu, Z., Wang, Y., Ng, W. L., Wu, W., Liu, Y., & Zhou, R. (2019). Hybridization of Bornean *Melastoma*: implications for conservation of endemic plants in Southeast Asia. *Botany Letters*, 166(2), 117–124.  
<https://doi.org/10.1080/23818107.2019.1585284>
- Chaowasku, T. (2020). Toward a phylogenetic reclassification of the subfamily ambavioideae (Annonaceae): Establishment of a new subfamily and a new tribe. *Acta Botanica Brasilica*, 34(3), 522–529.  
<https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0051>
- Darusman, H. S., Rahminiwati, M., Sadiyah, S., Batubara, I., Darusman, L. K., & Mitsunaga, T. (2012). Indonesia kepel fruit (*Stelechocarpus burahol*) as oral deodorant. *Research Journal of Medicinal Plant* 6(2), 180–188).
- Dinas Lingkungan Hidup Daerah Istimewa Yogyakarta (DLH DIY). 2019. Seri Flora Identitas: Kepel Si Pohonnya Putri

- Raja. <https://dlhk.jogjaprovo.go.id/seri-flora-identitas-kepel-si-pohonnya-putri-raja>. [30 November 2022].
- Edwards, C. E., Tessier, B. C., Swift, J. F., Bassüner, B., Linan, A. G., Albrecht, M. A., & Yatskievych, G. A. (2021). Conservation genetics of the threatened plant species *Physaria filiformis* (Missouri bladderpod) reveals strong genetic structure and a possible cryptic species. *PLoS ONE*, *16*(3), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247586>
- Kramer, A. T., & Havens, K. (2009). Plant conservation genetics in a changing world. *Trends in Plant Science*, *14*(11), 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.08.005>
- Kress, W. J. (2017). Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. *Journal of Systematics and Evolution*, *55*(4), 291–307. <https://doi.org/10.1111/jse.12254>
- Ladeska, V., Dwita, L. P., Oktaviani, F., Putri, O. F., Salamah, Y., & Amelia, F. (2022). Effects of *Stelechocarpus burahol* [Blume] leaf ethanol extract ointment on burns healing. *Tropical Journal of Natural Product Research*, *6*(9), 1434–1439.
- Larranaga, N., & Hormaza, J. I. (2015). DNA barcoding of perennial fruit tree species of agronomic interest in the genus *Annona* (Annonaceae). *Frontiers in Plant Science*, *6*, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00589>
- Lestari, D. A., Azrianingsih, R., & Hendrian, H. (2018). Filogenetik jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi berdasarkan coding dan non-coding sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, *3*(1), 1. <https://doi.org/10.22146/jtbb.28308>
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *90*(1), 157–166. <https://doi.org/10.1111/brv.12104>
- Minter, M., O'Brien, D., Cottrell, J., Ennos, R., Hill, J. K., & Hall, J. (2021). Exploring the potential for 'Gene Conservation Units' to conserve genetic diversity in wild populations. *Ecological Solutions and Evidence*, *2*(2), 1–9. <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12061>
- Nagarajan M, Prabhu VR, Kamalakkannan R, Sinu PA. 2020. DNA Barcoding: Implications in Plant–Animal Interactions. In: Trivedi, S., H. Rehman, S. Saggi, C. Panneerselvam, S. Ghosh (eds). DNA Barcoding and Molecular Phylogeny. Switzerland: Springer. p 83–101.
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan RI No. P.106/MENLHK/SETJEN/KUM.1/12/2018 tentang Perubahan Kedua atas Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P.20/MENLHK/SETJEN/KUM.1/6/2018 tentang Jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi.
- Phillips, R. D., Reiter, N., & Peakall, R. (2020). Orchid conservation: From theory to practice. *Annals of Botany*, *126*(3), 345–362. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa093>
- Rachmat, H. H., Subiakto, A., & Kamiya, K. (2016). Short Communication: Genetic diversity and conservation strategy considerations for highly valuable medicinal tree of *Taxus sumatrana* in



- Indonesia. *Biodiversitas*, 17(2), 487–491.  
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d170213>
- Simpson MG. 2019. *Plant Systematics*, third ed. New York: Elsevier.
- Soeroto, E. hasthiati, Priatmodjo, D., Wisnubudi, G., & Sukartono, I. (2018). *Pembibitan dan Pengembangan Tanaman Buah Lokal*. Pusat Pemberdayaan Masyarakat Universitas Nasional (PPM-UNAS).
- Su, Y. C. F., Smith, G. J. D., & Saunders, R. M. K. (2008). Phylogeny of the basal angiosperm genus *Pseuduvaria* (Annonaceae) inferred from five chloroplast DNA regions, with interpretation of morphological character evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(1), 188–206.  
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.028>
- Suwandi, A. O., Pramono, S., & Mufrod. (2012). Pengaruh konsentrasi ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BL) Hook f. & Th.) terhadap aktivitas antioksidan dan sifat fisik sediaan krim. *Majalah Obat Tradisional*, 17(2), 27-33.
- Tisnadjaja, D., Saliman, E., Silvia, S., & Simanjuntak, P. (2006). Study of burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) as an antioxidative compounds containing fruit. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 7(2), 199–202.  
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d070223>
- Turner, I. M. (2018). Annonaceae of the Asia-Pacific region: names, types and distributions. *Gardens' Bulletin Singapore*, 70(2), 409–744.  
[https://doi.org/10.26492/gbs70\(2\).2018-11](https://doi.org/10.26492/gbs70(2).2018-11)
- Wang, S. Q. (2020). Genetic diversity and population structure of the endangered species *Paeonia decomposita* endemic to China and implications for its conservation. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02682-z>
- Willi, Y., Kristensen, T. N., Sgro, C. M., Weeks, A. R., Ørsted, M., & Hoffmann, A. A. (2022). Conservation genetics as a management tool: The five best-supported paradigms to assist the management of threatened species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(1), 1–10.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2105076119>
- Xue, B., Thomas, D. C., Chaowasku, T., Johnson, D. M., & Saunders, R. M. K. (2014). Molecular phylogenetic support for the taxonomic merger of *Fitzalania* and *Meiogyne* (Annonaceae): New nomenclatural combinations under the conserved name *Meiogyne*. *Systematic Botany*, 39(2), 396–404.  
<https://doi.org/10.1600/036364414X680825>