

RINGKASAN

Tapak dara [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] merupakan salah satu anggota Familia Apocynaceae yang berasal dari Pulau Madagaskar. *C. roseus* pada umumnya dimanfaatkan sebagai tanaman hias dan juga tanaman obat. Saat ini dikenal sejumlah kultivar *C. roseus*, yang mendorong perlunya dilakukan analisis perbedaan genetik di antara beberapa kultivar tersebut menggunakan marka molekuler tertentu. Hal ini karena karakterisasi fenotipik kurang akurat dalam merepresentasikan keanekaragaman yang ada di antara kultivar-kultivar suatu spesies tanaman. Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan genetik di antara beberapa kultivar *C. roseus* berdasarkan sekuen IGS *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) dan hubungan filogenetik di antara beberapa kultivar *C. roseus* berdasarkan penanda molekuler tersebut. IGS *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) merupakan daerah *non-coding* pada genom kloroplas dan diketahui memiliki laju evolusi yang tinggi sehingga sesuai untuk digunakan dalam analisis keanekaragaman pada tingkatan taksa yang rendah.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika dan Molekuler serta Laboratorium Pengajaran III Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman menggunakan 10 sampel *C. roseus* yang mewakili beberapa kultivar *C. roseus* yang berbeda. DNA genomik diekstraksi dari masing-masing sampel tersebut menggunakan metode CTAB untuk selanjutnya digunakan sebagai templat PCR untuk mengamplifikasi IGS *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA). Produk amplifikasi yang diperoleh kemudian ditentukan sekuen basanya menggunakan metode dideoksi yang diotomatisasi. Hasil sekuensing disunting menggunakan piranti lunak BioEdit versi 7.0.4.1 dan diperiksa secara manual. Penjajaran sekuen dilakukan menggunakan Program ClustalW, yang juga diimplementasikan dalam piranti lunak Bioedit versi 7.0.4.1. Untuk memastikan kebenaran sekuen yang diperoleh sebagai IGS *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) dilakukan perbandingan dengan data sekuen yang ada di pangkalan data NCBI. Dendrogram hubungan filogenetik antarhaplotipe kultivar *C. roseus* dikonstruksi menggunakan analisis *Neighbor-Joining*, *Maximum Likelihood*, dan UPGMA yang diimplementasikan dalam Program MEGA versi 11.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sekuen IGS *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) pada beberapa kultivar *C. roseus* memperlihatkan ukuran yang bervariasi dan semuanya memiliki tingkat similaritas yang tinggi dengan sekuen genom kloroplas *C. roseus* kultivar Pacifica Halo yang ada di pangkalan data NCBI. Hasil penjajaran sekuen menunjukkan adanya perbedaan genetik pada beberapa kultivar *C. roseus* berupa substitusi basa dan insersi-delesi. Konstruksi pohon filogenetik menunjukkan adanya hubungan kekerabatan genetik yang dekat di antara seluruh kultivar *C. roseus*.

Kata kunci: perbedaan genetik, tapak dara, *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA)

SUMMARY

Madagascar periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don] is a member of the Family of Apocynaceae originating from Madagascar Island. *C. roseus* is commonly utilized as both an ornamental plant and medicinal herb. Currently, several cultivars of *C. roseus* are known, prompting the need for genetic analysis among these cultivars using specific molecular markers. This is due to the less accurate representation of diversity among plant species cultivars through phenotypic characterization. Therefore, a study has been conducted with the aim of determining the presence of genetic differences among various *C. roseus* cultivars based on the *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) IGS sequence and elucidating the phylogenetic relationships among these cultivars using these molecular markers. The *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) IGS is a non-coding region in the chloroplast genome known for its high evolutionary rate, making it suitable for diversity analysis at lower taxonomic levels.

The study was carried out at the Genetics and Molecular Laboratory and Teaching Laboratory III of the Faculty of Biology, Jenderal Soedirman University by using 10 samples of *C. roseus* representing some different cultivars. Genomic DNA was extracted from each sample using the CTAB method and subsequently used as a PCR template to amplify *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) IGS. The obtained amplification products were then sequenced using automated dideoxy sequencing. The sequencing results were edited using BioEdit software version 7.0.4.1 and manually inspected. Sequence alignment was performed using the ClustalW program, which was also implemented in the BioEdit software version 7.0.4.1. To confirm the accuracy of the obtained *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) IGS sequences, blasting was made with the sequence data available in the NCBI database. A dendrogram depicting the phylogenetic relationships among haplotypes of *C. roseus* cultivars was constructed using Neighbor-Joining, Maximum Likelihood, and UPGMA analyses implemented in MEGA software version 11.

The results indicate that the sequence of the *trnT*(UGU)-*trnL*(UAA) IGS varies among different *C. roseus* cultivars and all exhibit high similarity with that of chloroplast genome of the *C. roseus* cultivar Pacifica Halo available in the NCBI database. Sequence alignment reveals genetic differences, including base substitutions and insertions-deletions among some *C. roseus* cultivars. The construction of a phylogenetic tree demonstrates a close genetic relationship among all *C. roseus* cultivars.

Keywords: *genetic differences, Madagascar periwinkle, trnT(UGU)-trnL(UAA)*