

**VERIFIKASI JENIS *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.
DENGAN PENDEKATAN MORFOLOGI DAN MOLEKULER
DI KEBUN RAYA BOGOR**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagai Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



**Diajukan oleh
ATHIVA AZTIANA
NIM 2108016072**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2025**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Athiva Aztiana

NIM : 2108016072

Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**VERIFIKASI JENIS *SYZYGium POLYANTHUM* (WIGHT.) WALP.
DENGAN PENDEKATAN MORFOLOGI DAN MOLEKULER
DI KEBUN RAYA BOGOR**

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/ karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 8 April 2025

Pembuat pernyataan,



Athiva Aztiana

NIM: 2108016072



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax. 7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Verifikasi Jenis *Syzygium polyanthum* (Wight.)
Walp. Dengan Pendekatan Morfologi dan Molekuler di Kebun Raya
Bogor

Penulis : Athiva Aztiana

NIM : 2108016072

Program Studi : Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima
sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu
Biologi.

DEWAN PENGUJI

Penguji Pertama,


Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M. S.
NIP. 19750222 200912 2007

Penguji Ketiga,


Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech.
NIP. 19841218 201101 2004

Penguji Kedua,



TT ELEKTRONIK

Irfan Martiansyah, M.Si.
NIP. 198503032 01902 1002

Penguji Keempat,


Hafidha Asni Akmalia, M. Sc.
NIP. 198908212 01903 2013

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi


Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech.
NIP. 19841218 201101 2004

NOTA DINAS

Semarang, 8 April 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamualaikum. wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan :

Judul : Verifikasi Jenis *Syzygium Polyanthum* (Wight.)
Walp. Dengan Pendekatan Morfologi Dan
Molekuler Di Kebun Raya Bogor
Nama : Athiva Aztiana
NIM : 2108016072
Jurusan : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing I



Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si.
NIP. 197502222009122002

NOTA DINAS

Semarang, 8 April 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamualaikum. wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan :

Judul : Verifikasi Jenis *Syzygium Polyanthum* (Wight.)
Walp. Dengan Pendekatan Morfologi Dan
Molekuler Di Kebun Raya Bogor
Nama : Athiva Aztiana
NIM : 2108016072
Jurusan : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqasyah.

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing II



TT ELEKTRONIK

BRIN

Irfan Martiansyah, M.Si.

NIP. 198503032019021002

MOTTO HIDUP

“Ketika dunia tunduk pada mereka yang berani
membangun kemakmuran dari nol”

ABSTRAK

Indonesia termasuk negara dengan keanekaragaman tumbuhan berbunga yang tinggi, salah satunya yaitu *Syzygium polyanthum* atau yang biasa dikenal dengan daun salam, tumbuhan ini termasuk dalam tumbuhan obat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi penamaan spesies *S. polyanthum* dengan menggunakan pendekatan morfologi dan DNA *barcoding*. Menggabungkan kedua metode tersebut tidak hanya memberikan resolusi taksonomi yang lebih tinggi, tetapi juga mengatasi kekurangan masing-masing metode jika digunakan secara terpisah. Tahapan penelitian ini yaitu melakukan pengambilan sampel, kemudian dilakukan pengamatan morfologi, dan dilanjutkan pada tahap molekuler. Hasil analisis menunjukkan bahwa penanda molekuler ITS optimal untuk *S. polyanthum*. Rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa terdapat *S. polyanthum* yang dapat mengelompok dengan *S. polyanthum* dan terdapat juga yang mengelompok dengan spesies yang lain sesuai pada database NCBI.

Kata kunci: DNA Barcoding, Filogenetik, Karakter Morfologi, *Syzygium polyanthum*, Verifikasi Taksonomi

ABSTRACT

Indonesia is a country with high diversity of flowering plants, one of which is *Syzygium polyanthum* or commonly known as bay leaves, this plant is included in the medicinal plants that are often used by the Indonesian people. This study aims to verify the naming of the *S. polyanthum* species using morphological and DNA barcoding approaches. Combining the two methods not only provides higher taxonomic resolution, but also overcomes the shortcomings of each method if used separately. The stages of this study were sampling, then morphological observations were carried out, and continued at the molecular stage. The results of the analysis showed that the ITS molecular marker was optimal for *S. polyanthum*. Phylogenetic tree reconstruction showed that there were *S. polyanthum* that could group with *S. polyanthum* and there were also those that grouped with other species according to the NCBI database.

Keywords: DNA Barcoding, Morphological Characters, Phylogeny, *Syzygium polyanthum*, Taxonomic Verification

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab Latin dalam skripsi ini berpedoman pada SKB Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158/1987 dan Nomor: 0543b/U/1987. Penyimpangan penulisan kata sandang [al-] disengaja secara konsisten supaya sesuai teks Arabnya.

ا	A	ط	t}
ب	B	ظ	z}
ت	T	ع	'
ث	s\	غ	g
ج	j	ف	f
ح	h}	ق	q
خ	kh	ك	k
د	D	ل	l
ذ	z\	م	m
ر	R	ن	n
ز	Z	و	w
س	S	ه	'
ش	sy	ء	y
ص	s}	ي	
ض	d}		

Bacaan Madd :

a> = a panjang

i> = i panjang

u> = u panjang

Bacaan Diftong :

au = أَوْ

ai = أَيَّ

iv = إِيَّ

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT. yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Verifikasi Jenis *Syzygium Polyanthum* (Wight.) Walp. dengan Pendekatan Morfologi dan Molekuler di Kebun Raya Bogor. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi S1 Biologi UIN Walisongo Semarang.

Shalawat dan salam senantiasa terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW. beserta keluarga dan para sahabatnya yang menjadi sumber inspirasi, pencerahan, dan teladan dalam menjalani kehidupan. Dengan penuh rasa syukur dan kebahagiaan, penulis menyadari bahwa keberhasilan dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari doa, dukungan, serta bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat, penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada:

1. Kepada empat sosok luar biasa dalam hidup penulis: ibu Tuti Herawati yang telah memberikan perhatian dan pengorbanannya, dan bapak Ahmad Aziz yang

memberikan dukungan baik secara moral maupun material, sehingga penulis dapat melewati setiap tantangan perkuliahan dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik, Azka dan Arta yang selalu membuat penulis tertawa ketika sedang merasa lelah dan selalu menjadi penyemangat utama;

2. Prof. Nizar, M.Ag., Rektor Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang;
3. Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag., Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang;
4. Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech., Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang;
5. Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si., Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberikan kritik, saran, dan motivasi kepada penulis guna terselesaikannya skripsi ini;
6. Bapak Irfan Martiansyah, M.Si. Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan ide, mengoreksi, memberikan kritik, saran, dan motivasi kepada penulis selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini;
7. Bapak Eko Purnomo, M.Si. selaku dosen wali yang selalu memberikan bimbingan dan arahan selama perkuliahan;

8. Lidya, Yunita, Agista, Asa, Irfan, Ahmad, dan Eko, yang telah menemani, mendukung dan memberikan banyak motivasi dari awal perkuliahan hingga akhir penulisan skripsi;
9. Bilqis dan Tiara ,yang telah memberikan banyak motivasi dan dorongan selama proses penulisan skripsi, serta telah kebersamai dan mengajak penulis untuk menyegarkan pikiran atau sekedar bercanda dan tertawa;
10. Irda, Isma, Yuni, dan Nur yang sudah kebersamai penelitian di BRIN yang selalu mendukung dan memberikan bantuan saat penulis mengalami kesusahan;
11. Teman kelas Biologi C yang telah yang telah kebersamai dalam masa perkuliahan baik dalam suka maupun duka;
12. Teman seperjuangan Biologi 2021 yang telah yang telah kebersamai dalam masa perkuliahan;
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah mendukung demi terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki keterbatasan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan karya ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, baik secara akademik maupun praktis, serta menjadi langkah awal

dalam memberikan kontribusi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan.

Semarang, 20 April 2025

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Athiva Aztiana', written over a light blue rectangular background.

Athiva Aztiana

NIM. 2108016072

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN	1
NOTA DINAS	3
NOTA DINAS	4
MOTTO HIDUP	5
ABSTRAK	6
TRANSLITERASI ARAB-LATIN	8
KATA PENGANTAR	9
DAFTAR ISI	13
DAFTAR GAMBAR	16
DAFTAR TABEL	18
BAB I PENDAHULUAN	20
A. Latar Belakang	20
B. Rumusan Masalah	27
C. Tujuan Penelitian	27
D. Manfaat Penelitian	28
BAB II	31
A. Kajian Teori	31
1. Tumbuhan <i>Syzygium polyanthum</i>	31
2. Persebaran <i>Syzygium polyanthum</i>	36
3. Pendekatan Morfologi	37
4. DNA <i>barcoding</i>	40

5.	Region <i>Internal Transcribes Spacer</i> (ITS)	44
6.	Region <i>maturase K</i> (<i>matK</i>)	46
7.	Sekuen <i>psba-trnH intergenic spacer</i>	47
8.	Keanekaragaman tumbuhan dalam Islam.....	49
B.	Kajian Hasil Penelitian Terdahulu yang Relevan	50
C.	Kerangka Berpikir	68
BAB III.....		69
A.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	69
B.	Alat dan Bahan	70
C.	Metode.....	71
1.	Pendekatan Morfologi	71
2.	Pendekatan Molekuler.....	73
D.	Analisis Data.....	84
BAB IV.....		88
A.	DESKRIPSI HASIL PENELITIAN	88
1.	Morfologi Tumbuhan.....	88
2.	Data Molekuler	113
B.	PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN	156
1.	Verifikasi <i>Syzygium polyanthum</i> berdasarkan karakter morfologi	156
2.	Verifikasi <i>Syzygium polyanthum</i> berdasarkan pendekatan molekuler	160
BAB V.....		177
1.	Simpulan.....	177

2. Saran.....	178
DAFTAR PUSTAKA.....	180
LAMPIRAN.....	190

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Syzygium polyanthum</i>	13
Gambar 2.2 Identifikasi spesies dengan DNA <i>barcoding</i> ..	22
Gambar 2.3 Wiayah <i>Internal Transcibes Spacer</i> (ITS) ,	26
Gambar 2.4 Diagram sekuen <i>matK</i>	28
Gambar 2.5 Sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	29
Gambar 3.1 Peta lokasi pengambilam sampel	47
Gambar 4.1. Tumbuhan <i>Syzygium</i> vak V.A.134	66
Gambar 4.2. Tumbuhan <i>Syzygium</i> vak V.A.141	67
Gambar 4.3. Tumbuhan <i>Syzygium</i> bukan koleksi	69
Gambar 4.4 Pohon filogenetik berdasarkan karakter morfologi	89
Gambar 4.5 Analisis hubungan kekerabatan menggunakan PCA	90
Gambar 4.6. Verifikasi hasil ekstraksi	92
Gambar 4.7. Amplifikasi menggunakan ITS	93
Gambar 4.8. Amplifikasi menggunakan <i>matK</i>	94
Gambar 4.9. Amplifikasi menggunakan <i>psbA-trnH</i>	95
Gambar 4.10. Kromatogram hasil sekuensing ITS sampel kode V.A.134	98
Gambar 4.11. Kromatogram hasil sekuensing ITS sampel kode V.C.141	98
Gambar 4.12. Kromatogram hasil sekuensing ITS sampel kode NK	99
Gambar 4.13. Pohon filogenetik	110

Gambar 4.14. Kromatogram hasil sekuensing <i>matK</i> sampel kode V.A.134	112
Gambar 4.15. Kromatogram hasil sekuensing <i>matK</i> sampel kode V.C.141	112
Gambar 4.16. Kromatogram hasil sekuensing <i>matK</i> sampel kode NK	113
Gambar 4.17. Pohon filogenetik.....	123
Gambar 4.18. Kromatogram hasil sekuensing <i>psbA-trnH</i> sampel kode V.A.134	125
Gambar 4.19. Kromatogram hasil sekuensing <i>psbA-trnH</i> sampel kode V.C.141	125
Gambar 4.20. Kromatogram hasil sekuensing <i>psbA-trnH</i> sampel kode NK.....	126
Gambar 4.21 Pohon filogenetik.....	136
Gambar 4.22 <i>S. polyanthum</i> V.A.134	152
Gambar 4.23 <i>S. polynthum</i> V.C.141	152
Gambar 4.24 <i>S. polynthum</i> NK.....	153

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Komponen PCR Mix.....	57
Tabel 3.2 Primer yang digunakan	58
Tabel 3.3 Rincian suhu dan waktu tiap region	71
Tabel 4.1 Ciri morfologi <i>S. polyanthum</i>	78
Tabel 4.2 Ciri morfologi <i>Syzygium</i> pembanding koleksi KRB.....	83
Tabel 4.3 Ciri morfologi <i>Syzygium</i> pembanding koleksi herbarium.....	102
Tabel 4.4 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler ITS	103
Tabel 4.5 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler ITS	104
Tabel 4.6 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler ITS	105
Tabel 4.7 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda ITS.....	108
Tabel 4.8 Jarak genetik dengan penanda molekuler ITS.....	115
Tabel 4.9 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler <i>matK</i>	116
Tabel 4.10 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler <i>matK</i>	117
Tabel 4.11 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler <i>matK</i>	118
Tabel 4.12 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda <i>matK</i>	119

Tabel 4.13 Jarak genetik dengan penanda molekuler <i>matK</i>	128
Tabel 4.14 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler <i>psbA-trnH</i>	129
Tabel 4.15 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler <i>psbA-trnH</i>	130
Tabel 4.16 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler <i>psbA-trnH</i>	131
Tabel 4.17 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda <i>psbA-trnH</i>	131
Tabel 4.18 Jarak genetik dengan penanda molekuler <i>psbA-trnH</i>	134

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jumlah spesies tumbuhan berbunga di Indonesia mencapai 20.000 atau sekitar 25% dari total spesies tumbuhan berbunga di dunia. Indonesia menempati posisi ketujuh secara global. Sebanyak 40% dari spesies tersebut merupakan tumbuhan endemik, artinya tumbuhan tersebut hanya dapat ditemukan di wilayah Indonesia. Keanekaragaman flora Indonesia ini tersebar di berbagai ekosistem, mulai dari hutan hujan tropis, mangrove hingga padang rumput. Distribusi flora yang luas ini dipengaruhi oleh kondisi geografis dan iklim yang beragam di Indonesia (Kusmana *et al.*, 2015).

Myrtaceae merupakan famili tumbuhan berbunga yang memiliki keanekaragaman hayati tinggi mencakup sekitar 5500 spesies yang tersebar di seluruh dunia, terutama di wilayah tropis dan sub tropis (Vasconcelos *et al.*, 2019). Genus yang termasuk suku ini yaitu *Eugenia*, *Psidium*, dan *Syzygium*, dimana masing-masing genus tersebut memiliki nilai ekologi, ekonomi, dan budaya yang signifikan (Nogueira *et al.*, 2016). Namun identifikasi spesies famili Myrtaceae seringkali kali

menghadapi tantangan yang disebabkan oleh variasi morfologi yang luas dan memiliki kesamaan ciri morfologi antar spesies.

Ciri morfologi dari famili Myrtaceae diantaranya perawakan berupa perdu atau pohon, akar tunggang, bagian batang berkayu, kulit batang mudah terkelupas, berseling, dan bertanin. Daun anggota famili Myrtaceae berjenis tunggal, tidak memiliki stipula, letaknya berhadapan, berseling, atau tersebar, tepi rata, mengandung minyak atsiri. Bunga famili ini berjenis tunggal atau dalam karangan simosa, rasemosa, biseksual, aktinomorf. Memiliki empat hingga lima kelopak yang biasanya berwarna hijau. Bagian- bagian bunga lainnya yang terlihat adalah mahkota yang berwarna cerah, benang sari dengan filamen, dan putik yang terdiri dari stigma, stilus, dan ovarium. Buah berbentuk *baka*, *drupa*, atau *kapsula*, serta memiliki biji yang tidak memiliki endosperma (Dasuk, 2002)

Kebun Raya Bogor adalah pusat untuk konservasi dan penelitian tumbuhan di Indonesia, yang mana di dalamnya memiliki koleksi tumbuhan dari famili Myrtaceae dengan jenis yang beragam. Dalam penelitian ini akan difokuskan pada salah satu genus dalam famili

Myrtaceae yaitu *Syzygium*. Kebun Raya Bogor memiliki 45 jenis *Syzygium* yang hidup, terkoleksi dan terpelihara dengan baik. Sebanyak 102 spesies telah teridentifikasi nama ilmiahnya. Namun, terdapat satu spesies yaitu *Syzygium polyanthum* (daun salam) yang identifikasinya masih perlu diverifikasi karena terindikasi kesalahan dalam penamaan, berdasarkan perbandingan morfologi dengan spesimen herbarium lain. Kesalahan penamaan ini dapat mengakibatkan kekeliruan dalam berbagai aspek, termasuk konservasi, penelitian, dan pemanfaatan spesies tersebut. Oleh karena itu, diperlukan kajian ulang untuk memverifikasi penamaan spesies *Syzygium* tersebut.

Daun salam merupakan salah satu tanaman yang mudah dijumpai disekitar kita dan telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat, tanaman ini memiliki peran penting dalam sistem pengobatan tradisional. Kandungan senyawa bioaktif dalam daun salam memberikan potensi sebagai alternatif untuk mengobati beberapa penyakit (Harismah, 2016). Selain itu, daun salam juga dikenal sebagai salah satu rempah-rempah yang umum digunakan dalam masakan. Aroma khasnya

yang harum membuat daun salam menjadi komponen yang penting dalam berbagai hidangan.

Morfologi daun salam ditandai dengan bentuknya yang lonjong hingga elips dengan bagian ujung daun meruncing. Permukaan daun yang licin dan berwarna hijau tua pada bagian adaksial dan berwarna hijau muda pada abaksial. Ciri lain yang dimiliki daun salam adalah menghasilkan aroma harum ketika daunnya diremas (de Guzman & Simeosma, 1999).

Identifikasi spesies tumbuhan secara tepat merupakan kunci keberhasilan konservasi dan penelitian. Pendekatan yang efektif untuk mengatasi masalah ini dapat dilakukan dengan metode konvensional dan modern. Metode konvensional yaitu dengan identifikasi morfologi, mampu memberikan informasi penting terkait sebaran geografis, ekologi, siklus hidup, dan konservasi tumbuhan yang prosesnya mengandalkan ciri-ciri fisik tumbuhan yang akan diamati. Namun, metode ini seringkali tidak cukup untuk membedakan spesies yang terlihat mirip atau yang memiliki banyak variasi bentuk, serta memiliki kelemahan, yaitu memerlukan waktu yang cukup lama dan dipengaruhi oleh faktor iklim serta tanah

sehingga beberapa karakter tumbuhan dapat bervariasi (Jannah *et al.*, 2021)

Identifikasi secara molekuler perlu dilakukan untuk mendukung identifikasi secara konvensional. Identifikasi molekuler ini dilakukan dengan melakukan pendekatan DNA *barcoding*. Pendekatan ini telah muncul sebagai metode alternatif yang efektif untuk identifikasi spesies. Analisis DNA *barcoding* suatu organisme, yang dilakukan dengan teknik molekuler, memberikan wawasan mendalam tentang karakteristik genetiknya (Aprilianingsih *et al.*, 2022).

Suatu organisme dapat diidentifikasi menggunakan metode DNA *barcoding* dengan menggunakan penanda genetik tertentu (de Lima *et al.*, 2018). Teknik DNA *barcoding* bergantung pada penanda genetik spesifik untuk melakukan pembagian genetik dan rekonstruksi filogenetik (Helmstdter, 2008). Sejumlah penanda yang dapat digunakan dalam identifikasi dan verifikasi diantaranya yaitu *Internal Transcribed Spacer* (ITS) yang berasal dari DNA inti; *rbcL*, *ndhF*, *matK*, *atpB*, *rp116* yang berasal dari DNA kloroplas; *CO1*, *16S-rDNA*, *Cyt-b* yang berasal dari mitokondria (Rahayu & Jannah, 2019). Jenis

penanda yang sering digunakan untuk genus *Syzygium* adalah *matK* dan ITS (Buys *et al.*, 2016)

Primer *matK* memiliki kelebihan yaitu dapat digunakan untuk melakukan pengamatan keanekaragaman genetik intraspecies dan interspecies serta memiliki laju substansi yang tinggi (Hollingsworth, 2011), sedangkan primer ITS memiliki karakter yang mudah untuk diamplifikasi, karena dalam genom intinya memiliki banyak salinan (Hayati, 2024). Hal tersebut yang menjadi alasan digunakan penanda molekuler *matK* dan ITS untuk penelitian DNA *barcoding* ini. Penulis juga menggunakan primer lain yaitu *psbA-trnH intergenic spacer*, pemilihan penambahan primer ini karena *psbA-trnH* memiliki karakter ukuran total basa yang lebih pendek dibandingkan dengan lokus yang lain (Kress *et al.*, 2005). Dengan demikian, proses ini meningkatkan efisiensi amplifikasi, terutama pada sampel DNA yang terdegradasi atau jumlahnya terbatas. *psbA-trnH* juga mampu membedakan antara spesies satu dengan spesies yang lain dengan lebih baik (Nithaniyal & Parani, 2016).

Identifikasi morfologi dan DNA *barcoding* merupakan pendekatan yang saling melengkapi dalam taksonomi modern. Morfologi, sebagai studi tentang

bentuk fisik organisme, memberikan dasar deskriptif yang mendalam tentang karakteristik fenotipik suatu spesies. Informasi morfologi ini sangat membantu dalam memahami adaptasi evolusioner dan hubungan filogenetik, sedangkan DNA *barcoding*, yang memanfaatkan sekuen DNA pendek DNA sebagai penanda molekuler, pendekatan ini memungkinkan verifikasi taksonomi yang lebih akurat, terutama dalam kasus spesies yang sulit dibedakan hanya berdasarkan identifikasi morfologi.

Penggabungan kedua pendekatan ini memberikan resolusi taksonomi yang lebih tinggi dalam identifikasi spesies (Yang *et al.*, 2022). Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi penamaan spesies *S. polyanthum* yang terindikasi belum tepat dengan menggunakan pendekatan morfologi dan DNA *barcoding*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kepastian taksonomi yang lebih akurat dan mendukung upaya konservasi dan pengelolaan koleksi tumbuhan di Kebun Raya Bogor.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik morfologi *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor?
2. Apakah penanda molekuler ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* dapat memverifikasi jenis *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor?
3. Bagaimana hasil perbandingan penanda molekuler DNA *barcoding* *S. polyanthum*, antara ITS, *matK*, dan *psbA-trnH*?
4. Bagaimana posisi *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor dalam pohon filogenetik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendeskripsikan karakteristik morfologi *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor.
2. Menentukan apakah penanda ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* dapat memverifikasi jenis *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor.
3. Membandingkan penanda molekuler manakah yang paling baik untuk digunakan dalam DNA *barcoding* *S. polyanthum* ITS, *matK*, dan *psbA-trnH*?

4. Menentukan posisi *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor dalam pohon filogenetik.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat diantaranya:

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini bermanfaat dalam menambahkan kajian mengenai karakteristik *S. polyanthum* serta memiliki potensi untuk memberikan kontribusi pada bidang taksonomi tumbuhan, evolusi, dan konservasi keanekaragaman hayati. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan penelitian yang lebih lanjut, seperti studi populasi, filogeografi, dan ekologi pada spesies *S. polyanthum*.

2. Manfaat praktis

- a. Bagi penulis

1. Sebagai sarana untuk memperdalam pengetahuan tentang taksonomi tumbuhan, khususnya genus *Syzygium*, sehingga dapat mengidentifikasi dan mendeskripsikan tumbuhan dengan lebih akurat.
2. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai persyaratan untuk melanjutkan studi ke

jenjang yang lebih tinggi atau meraih gelar akademik.

b. Bagi masyarakat

1. Bermanfaat dalam verifikasi spesies *S. polyanthum* agar tidak terjadi kesalahan dalam identifikasi.
2. Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada pembaca tentang distribusi dan habitat alami sehingga dapat membantu dalam pengelolaan habitat yang tepat.
3. Penelitian ini dapat memberikan data yang dapat digunakan untuk mencegah kepunahan spesies akibat perubahan iklim atau ancaman yang lain.

c. Bagi institusi UIN Walisongo

1. Berkontribusi dalam tercapainya target visi dan misi UIN Walisongo Semarang yaitu Universitas Islam riset terdepan berbasis kesatuan dan ilmu pengetahuan.
2. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi tambahan di perpustakaan UIN Walisongo Semarang.

d. Bagi Kebun Raya Bogor

1. Menggabungkan kedua metode yaitu DNA *barcoding* dan morfologi dapat menghasilkan identifikasi yang lebih akurat, dibandingkan hanya menggunakan satu metode saja, yaitu identifikasi morfologi.
2. Data morfologi yang detail dapat melengkapi data genetik yang ada di Kebun Raya Bogor, sehingga informasi koleksi tumbuhan menjadi lebih lengkap.
3. Dari analisis DNA *barcoding* menghasilkan data sekuen DNA yang dapat disimpan dalam bentuk data dan dapat digunakan sebagai acuan untuk identifikasi lebih lanjut di masa yang akan datang.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

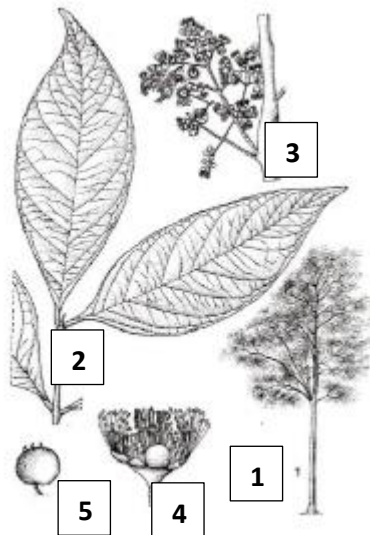
A. Kajian Teori

1. Tumbuhan *Syzygium polyanthum*

Syzygium merupakan genus tumbuhan berbunga terbesar yang masuk ke dalam famili Myrtaceae, dengan kisaran jumlahnya yaitu 1200-1800 spesies. Pendistribusian genus ini banyak terdapat di daerah tropis dan subtropis, khususnya Asia Tenggara seperti di Indonesia dan Malaysia. *S. polyanthum* dapat beradaptasi dengan baik di berbagai kondisi lingkungan, mulai dari dataran rendah hingga pegunungan dengan ketinggian 1800 meter di atas permukaan laut. Persebarannya pun cukup luas, hingga masuk ke Pulau Jawa (Sembiring *et al.*, 2017).

S. polyanthum seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.1 merupakan pohon yang memiliki ketinggian hingga 30 meter dan diameter batang berukuran 60 cm. Memiliki daun berjenis tunggal berbentuk lonjong atau lanset yang tumbuh berpasangan serta memiliki permukaan yang halus. Tangkai daun memiliki panjang hingga 12 mm. Daun

S. polyanthum umumnya berukuran lebih besar dengan bentuk lanset yang khas. jika dibandingkan dengan daun tanaman obat dari genus *Ocimum*. Ukurannya bisa mencapai 30 cm x 15 cm (Mukaromah, 2020). Bunga tanaman ini berwarna putih, memiliki aroma yang harum, dan tersusun dalam tandan. Buahnya berbentuk bulat, berukuran kecil, dan berwarna merah hingga ungu ketika matang (de Guzman & Simeosma, 1999).



Gambar 2.1 *Syzygium polyanthum* (1) Habitus pohon (2) Ranting dan daun (3) Cabang dengan pembungaan (4) Bunga (5) Buah (de Guzman & Simeosma, 1999)

S. polyanthum dapat diperbanyak dengan berbagai cara, seperti langsung ditanam bijinya, atau dengan vegetatif seperti cangkok dan stek. Selain digunakan sebagai peneduh, tanaman ini juga memiliki beberapa manfaat diantaranya yaitu sebagai bumbu masakan dan bahan obat-obatan. Masyarakat Indonesia sering menanam pohon salam bersama melinjo di pekarangan rumah, karena pohon tersebut bisa dijadikan sebagai pembatas hingga sumber pangan dan kayu. Perbungaan pohon salam ini biasanya dimulai pada usia tiga bulan, dan proses penyerbukannya dibantu oleh serangga, seperti kupu-kupu dan lebah (de Guzman & Simeosma, 1999). Analisis kimia menunjukkan bahwa daun salam memiliki banyak senyawa yang bermanfaat, termasuk minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan terpenoid (Widyawati *et al.*, 2012). Meskipun demikian, tanaman dalam famili Myrtaceae lebih dikenal karena memiliki kandungan minyak atsiri yang tinggi. Minyak atsiri adalah zat yang dapat menghasilkan aroma khas pada berbagai bagian tanaman mulai dari daun hingga akar (Silahi, 2017).

1) Klasifikasi *Syzygium polyanthum*

Berikut merupakan klasifikasi dari tanaman *Syzygium polyanthum* (itis.gov) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Syzygium*
Species : *Syzygium polyanthum*

2) Kandungan Kimia *Syzygium polyanthum*

Daun salam mengandung berbagai senyawa kimia, terutama minyak atsiri yang terdiri dari eugenol, sitral, dan asam fenolat. Selain itu, daun salam juga mengandung flavonoid dan tannin. Tanaman dalam famili Myrtaceae umumnya memiliki rasa sepat, aroma khas, dan sifat khas, seperti yang terdapat pada daun salam (Yuliati, 2012).

Penelitian menunjukkan bahwa flavonoid yang merupakan salah satu komponen senyawa kimia yang terdapat pada daun salam dapat mengganggu proses metabolisme serangga dengan menghambat penyerapan asam amino.

Salah satu jenis flavonoid yang dapat membunuh serangga dengan cara menghambat penyerapan nutrisi dan bersifat racun yaitu rotenone. Minyak atsiri pada daun salam memiliki berbagai efek pada serangga, mulai dari menarik, mengusir, hingga membunuh. Selain itu, rasa pahit dari tanin dapat mengurangi nafsu makan serangga dan dapat menghambat untuk bertelur. Daun salam juga mengandung senyawa lain seperti saponin, triterpenoid, dan polifenol yang berkontribusi pada aktivitas insektisidanya (Samudra, 2014).

3) Manfaat *Syzygium polyanthum*

Daun salam merupakan salah satu rempah populer asli Indonesia memiliki banyak manfaat. Selain digunakan dalam pengobatan tradisional, daun salam juga penting dalam menambah cita rasa dan aroma pada berbagai hidangan. Kandungan minyak atsiri seperti eugenol dan sitral dalam daun salam memberikan aroma yang khas menjadikannya salah satu bumbu dapur yang populer (Harismah, 2016).

Daun salam telah lama menjadi bagian penting dalam pengobatan tradisional. Sejak zaman dahulu, masyarakat telah memanfaatkan daun salam untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Mulai dari gangguan pencernaan hingga penyakit kronis seperti diabetes dan hipertensi, daun salam dipercaya memiliki khasiat yang beragam (Yuliati, 2012).

2. Persebaran *Syzygium polyanthum*

Tumbuhan dari genus *Syzygium* sangat beragam dan banyak ditemukan di wilayah Malesia, khususnya di Indonesia. Pulau Borneo merupakan tempat tinggal bagi 156 jenis tumbuhan *Syzygium*. Pulau Jawa, jumlah jenisnya lebih sedikit, yaitu 52 jenis. Sebanyak 20 jenis *Syzygium* tumbuh di Jawa Timur (Merrill & Perry, 1939). Sementara itu, di Sulawesi tercatat sebanyak 14 spesies yang sudah teridentifikasi, namun analisis terhadap spesimen herbarium menunjukkan bahwa jumlah spesies yang sebenarnya di pulau ini kemungkinan jauh lebih besar, yaitu mencapai lebih dari 100 spesies (Izzatinnisa & Utami, 2020).

Penelitian yang dilakukan oleh Alika *et al.*, (2023) tentang inventarisasi tumbuhan Famili Myrtaceae di Kota Sumedang menunjukkan hasil yaitu genus *Syzygium* mendominasi dengan ditemukannya tiga spesies, yaitu *S. aqueum*, *S. polyanthum*, dan *S. myrtifolium*. Hanya 1 spesies dari Genus *Psidium* yang ditemukan, yaitu *P. guajava*. Penelitian Waryono (2001) menunjukan bahwa *S. polyanthum* memiliki distribusi yang luas di wilayah Jakarta, terutama di sepanjang tepian sungai. Baik individu dewasa maupun semai, spesies ini ditemukan dalam jumlah signifikan. Penelitian lain juga dilakukan oleh Maudiana (2016) mengenai persebaran *Syzygium* di Gunung Baung, Jawa Timur. Dari hasil penelitian 347 individu dari enam spesies *Syzygium*, yaitu dari *S. cumini*, *S. littorale*, *S. polyanthum*, *S. racemosum*, dan *S. samarangense*.

3. Pendekatan Morfologi

Ilmu yang mempelajari bentuk tumbuhan, yaitu morfologi, serta mempelajari bentuk fisik dan struktur dari tumbuhan. Morfologi menjadi ilmu dasar dalam klasifikasi tumbuhan. Ciri-ciri morfologi yang kasat mata memungkinkan para ahli untuk

mengidentifikasi, mengelompokkan, dan memberi nama pada berbagai jenis tumbuhan secara efektif, hingga tingkat spesies (Gombong, 2004).

Memahami tumbuhan secara mendalam dapat dilakukan melalui pengamatan bentuk dan bagiannya secara cermat. Pendekatan ini sangat membantu karena sifatnya yang mudah diamati, memungkinkan deteksi perubahan pada tumbuhan dengan cepat. Keunggulan ini membuat pengamatan morfologi menjadi metode yang efisien, terutama jika dibandingkan dengan metode lain yang memerlukan waktu dan peralatan yang lebih kompleks untuk menunjukkan hasil serupa.

Terdapat beberapa alasan mengapa karakter morfologi digunakan dalam filogenetik yaitu (1) Karakter morfologi, memiliki struktur tiga dimensi yang kompleks, memungkinkan kita untuk lebih yakin dalam menentukan apakah suatu ciri pada dua organisme berbeda memiliki asal usul yang sama. (2) Morfologi menawarkan berbagai jenis karakter yang dapat digunakan dalam analisis filogenetik, memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam penelitian. (3) Data morfologi dapat diperoleh

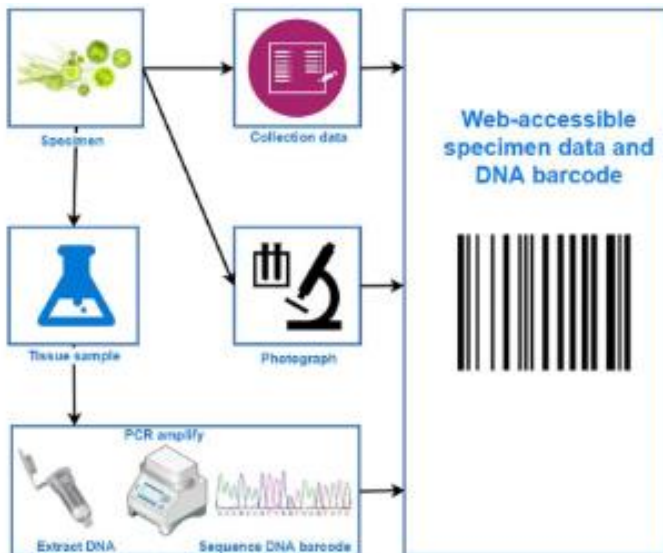
dengan waktu yang singkat dan mudah dari berbagai spesimen, baik yang masih hidup maupun yang sudah menjadi herbarium. (4) Peneliti dapat langsung mengidentifikasi hubungan kekerabatan antara organisme berdasarkan ciri morfologinya. (5) Morfologi seringkali mengungkapkan ciri-ciri unik yang dapat menjadi penanda penting dalam menentukan kelompok organisme yang berbeda. (6) Data morfologi memberikan informasi tambahan yang tidak sepenuhnya bergantung pada data genetik, sehingga hasil analisis menjadi lebih komprehensif. (7) Dengan menggabungkan data morfologi dan molekuler, kita dapat memperoleh pemahaman yang lebih baik tentang hubungan evolusi antar organisme. (8) Karakter morfologi cenderung berubah secara stabil dibandingkan dengan karakter molekuler, sehingga lebih cocok untuk merekonstruksi sejarah evolusi jangka panjang. (9) penggunaan karakter morfologi memungkinkan kita untuk membangun pohon yang lebih akurat dengan melibatkan lebih banyak jenis organisme. (10) Karakter morfologi dapat digunakan dalam kajian fosil (Mishler, 2010).

Identifikasi morfologi memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dari identifikasi ini yaitu data morfologi sangat berguna untuk melacak evolusi organisme di masa lalu. Selain itu, banyak data morfologi yang sudah tersedia. Kekurangan identifikasi morfologi yaitu mengalami kesulitan untuk menentukan apakah suatu ciri pada dua organisme berbeda memiliki asal usul yang sama. Karakter morfologi seringkali kompleks dan dapat berevolusi secara independen pada kelompok organisme yang berbeda, sehingga dapat menyebabkan kesimpulan yang salah. Selain itu, variasi karakter morfologi antar spesies seringkali sangat tinggi (Smith, 1997).

4. DNA *barcoding*

DNA *barcoding* adalah metode identifikasi spesies menggunakan kode genetik, dengan menggunakan DNA *barcoding* peneliti dapat mengidentifikasi spesies dengan lebih tepat dan cepat. Metode ini memanfaatkan kode genetik suatu organisme yang akan dibandingkan dengan database referensi, sehingga dapat melengkapi identifikasi yang dilakukan berdasarkan ciri fisik (gambar 2.2)

(Kress et al., 2005). Sekuen DNA yang digunakan yaitu merupakan sekuen pendek dan unik, untuk panjang sekuen DNA yang dipakai biasanya berukuran sekitar 600-900 bp. Metode ini sangat berguna bagi para ahli taksonomi karena lebih cepat dan akurat dibandingkan metode tradisional (Hebert et al., 2003).



Gambar 2.2 Identifikasi spesies dengan DNA *barcoding* (Kowalska et al., 2019)

DNA *barcoding* memiliki beberapa kegunaan, mulai dari mengidentifikasi spesies yang sulit untuk dibedakan dan memastikan keamanan suatu pangan. Namun, metode ini masih memiliki beberapa tantangan, seperti kesulitan dalam mengidentifikasi spesies yang sangat mirip secara genetik dan kurangnya standar analisis data yang seragam. Namun demikian, dalam bidang botani, DNA *barcoding* telah terbukti sangat bermanfaat untuk mengidentifikasi jenis tumbuhan, mempelajari hubungan kekerabatan antar jenis, dan menganalisis penyebaran geografis populasi tumbuhan.

DNA *barcoding* bukanlah pengganti dari metode konvensional, melainkan menjadi pelengkap yang sangat membantu dalam identifikasi spesies. Ahli taksonomi dapat memanfaatkan DNA *barcoding* sebagai alat tambahan untuk mempercepat proses identifikasi dan mendapatkan hasil yang lebih cepat dan akurat (Wäldchen et al., 2018). DNA *barcoding* dilakukan melalui empat tahapan utama. Pertama, DNA diekstrak dari sampel. Kedua, memperbanyak bagian DNA yang menjadi target identifikasi. Ketiga, membaca urutan DNA yang telah diperbanyak. Tahap

keempat adalah membandingkan urutan yang diperoleh dengan data yang sudah ada di database untuk mengetahui lebih lanjut tentang nama spesiesnya (Kress *et al.*, 2012).

DNA *barcoding* yang baik harus memiliki sekuen yang sama pada semua spesies yang akan dibandingkan, namun cukup berbeda untuk membandingkan antar spesies. Dalam memilih gen untuk DNA *barcode* juga harus mempertimbangkan beberapa faktor, yaitu kesamaan gen pada semua kelompok organisme yang diteliti, pengetahuan mengenai gen dan genom untuk merancang primer PCR, tingkat evolusi gen yang sesuai dengan tingkat takson yang diteliti, dan kemudahan dalam menyelaraskan data sekuen (Virgilio *et al.*, 2012).

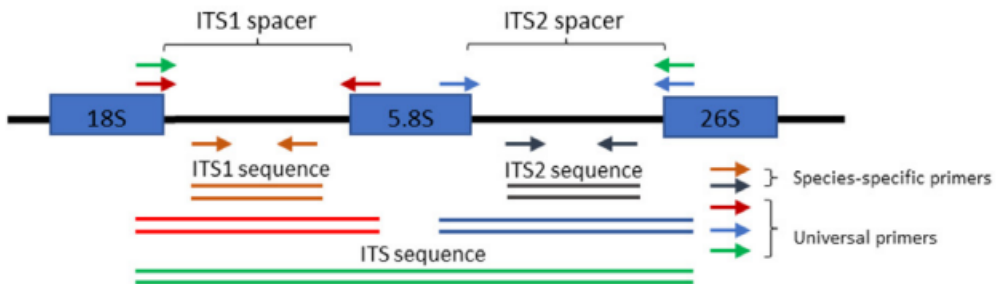
Teknik DNA *barcoding* memerlukan pemilihan gen penanda dan primer yang sesuai. Sumber DNA yang biasa digunakan adalah mitokondria dan inti sel. Gen mitokondria seperti *Cytochrome c oxidase 1* (CO1) dan *Cytochrome b* (Cy b) adalah pilihan populer untuk hewan, namun kurang ideal untuk tumbuhan. Hal ini disebabkan oleh tingkat mutasi pada mitokondria tumbuhan yang lebih rendah,

sehingga sulit untuk membedakan antar spesies tumbuhan menggunakan gen tersebut. Penelitian menunjukkan bahwa gen kloroplas seperti *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)*, *ndhF*, *atp8*, *psba-trnH*, dan *maturase K (matK)*, serta gen inti seperti *Internal Transcribed Spacer (ITS)*, *Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1)*, *Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2)*, dan 18S sering digunakan untuk mengidentifikasi tumbuhan (Jannah *et al.*, 2021). Penanda DNA yang ideal untuk tumbuhan harus memiliki tingkat perbedaan yang tinggi antar spesies namun memiliki tingkat perbedaan yang rendah antar individu dalam satu spesies (Kowalsk, Pniewski, & Latala, 2019).

5. Region *Internal Transcribes Spacer (ITS)*

Gen ITS merupakan bagian dari DNA inti tumbuhan, sering digunakan dalam penelitian untuk membedakan spesies tumbuhan. Memiliki daerah *non-coding* yang sangat bervariasi antar spesies, sehingga menjadikannya penanda yang baik untuk identifikasi (Ali *et al.*, 2014). Daerah ITS berada diantara gen yang mengkode RNA ribosom 18S dan 26S. Struktur ITS terdiri dari dua bagian utama, yaitu

ITS1 dan ITS2, yang masing-masing terletak diantara gen 18S dan 5.8S rRNA, serta antara gen 5.8S rRNA dan 26S rRNA (gambar 2.3) (Orhan, 2021). Panjang daerah *non-coding* ITS biasanya berkisar antara 600-900 bp, sedangkan daerah *coding* rRNA 5.8S memiliki panjang sekitar 2600 bp dan rRNA 26S sekitar 3300 bp (Ali *et al.*, 2014).



Gambar 2.3 Wiayah *Internal Transcibes Spacer* (ITS)
(Orhan, 2021)

Tingginya tingkat mutasi pada daerah *non-coding* ITS membuatnya sangat berguna dalam penelitian evolusi. Daerah ini memungkinkan kita untuk mengetahui perubahan genetik yang terjadi seiring berjalannya waktu, sehingga dapat digunakan untuk mempelajari hubungan kekerabatan antara

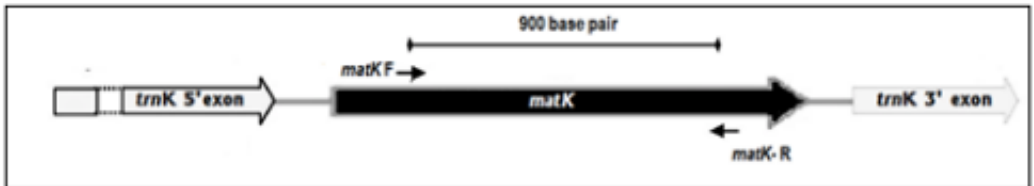
kelompok organisme yang berkerabat dekat (Chen et al., 2010).

ITS memiliki beberapa keunggulan untuk penelitian genetik. Dengan ukuran yang relatif pendek (600-900 bp), ITS mudah diperbanyak dan dianalisis (Ekasari *et al.*, 2012). Selain itu, ITS memiliki tingkat variasi yang tinggi, bahkan antar spesies yang berkerabat dekat, sehingga sangat berguna untuk membedakan spesies satu dengan lainnya. Banyaknya salinan rRNA dan tingkat konservasi yang berbeda-beda pada komponen ITS juga menjadikannya penanda filogenetik yang baik. ITS dapat digunakan untuk membangun pohon filogenetik yang akurat, mulai dari tingkat genus hingga spesies (Chen *et al.*, 2010).

6. Region *maturase K* (*matK*)

Gen *matK* adalah gen yang sering digunakan untuk mempelajari hubungan kekerabatan antar tumbuhan. Gen ini memiliki panjang sekuen sekitar 1500 bp dan letaknya diantara *intron* kloroplas pada gen *trnK* (gambar 2.4) (Dunning & Savolainen, 2010). Gen *matK* yang terletak di dalam kloroplas, memiliki laju perubahan genetik yang lebih cepat baik pada

tingkat basa maupun pada tingkat asam amino yang membentuk protein, dibandingkan dengan gen *rbcl* (Hollingsworth, 2011).



Gambar 2.4 Diagram sekuen *matK* (Kumar, 2016)

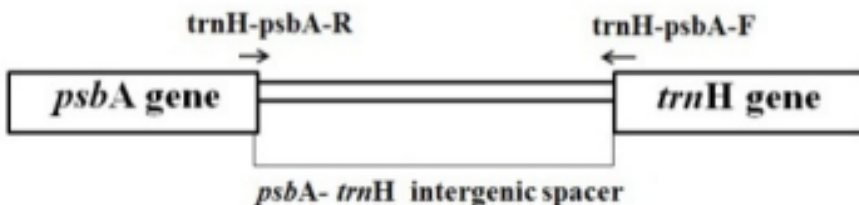
Gen *matK* memiliki karakteristik yang membuatnya cocok untuk identifikasi tumbuhan. Ukurannya yang sedang, laju mutasi yang tinggi, dan variasi nukleotida yang luas memungkinkan gen ini membedakan tumbuhan pada tingkat taksonomi yang rendah, mulai dari famili hingga spesies (Selveraj *et al.*, 2008).

7. Sekuen *psbA-trnH intergenic spacer*

Wilayah *psbA-trnH intergenic spacer* (gambar 2.5) pada kloroplas tumbuhan telah terbukti menjadi penanda molekuler yang sangat efektif dalam mengidentifikasi spesies, terutama pada tingkat

taksonomi yang rendah. Wilayah ini lebih mudah diperbanyak dan mengandung informasi genetik yang lebih banyak dibandingkan dengan wilayah *non-coding* yang lain (Štorchová & Olson, 2007).

Diantara berbagai wilayah genom kloroplas, daerah *psbA-trnH* dikenal memiliki tingkat perbedaan genetik yang tinggi pada tumbuhan berbunga. Variasi genetik yang signifikan pada wilayah ini menjadikannya alat yang baik untuk mengungkapkan hubungan kekerabatan antar spesies tumbuhan pada tingkat yang lebih rendah. Selain itu, karakteristiknya yang unik juga mendukung penggunaannya sebagai penanda molekuler dalam teknik identifikasi spesies yang cepat dan akurat, yaitu DNA *barcoding* (Štorchová & Olson, 2007).



Gambar 2.5 Sekuen *psbA-trnH intergenic spacer*
(Phoolcharoen & Sukrong, 2012)

Daerah *spacer* yang terletak diantara gen *psbA* dan *trnH* memiliki peran penting dalam mengatur aktivitas gen tersebut. Selain itu, urutan genetik pada daerah ini sangat bervariasi antar spesies tumbuhan berbunga sehingga memiliki potensi untuk dijadikan sebagai *barcode* unik untuk mengidentifikasi setiap jenis tumbuhan. Penggunaan sekuen *psbA-trnH* sebagai DNA *barcode* memiliki kekurangan yaitu identifikasinya yang masih terbatas, *psbA-trnH* tidak cukup bervariasi untuk membedakan spesies yang berkerabat dekat (Whitlock *et al.*, 2010).

8. Keanekaragaman tumbuhan dalam Islam

Allah SWT telah berfirman dalam Al-Quran surah Thaaha ayat 53 yang berbunyi

وَأَنْزَلَ سُبُلًا فِيهَا لَكُمْ وَسَلَكَ مَهْدًا الْأَرْضَ لَكُمْ جَعَلَ الَّذِي
شَتَى نَبَاتٍ مِنْ أَرْوَاجٍ بِهِ فَأَخْرَجْنَا مَاءَ السَّمَاءِ مِنْ

Artinya : : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (QS. Thaha:53).

Ayat diatas menjelaskan bahwa keanekaragaman hayati adalah kekayaan semua bentuk kehidupan di bumi. Mulai dari tumbuhan yang sederhana seperti lumut hingga tumbuhan yang memiliki struktur lengkap seperti pohon pisang. Keanekaragaman ini tidak hanya mencakup jumlah spesies, tetapi juga variasi genetik di dalam setiap spesies. Keanekaragaman hayati bisa ditemukan di berbagai habitat, dari hutan hujan tropis hingga lautan dalam.

B. Kajian Hasil Penelitian Terdahulu yang Relevan

Penelitian ini didasarkan pada kajian literatur yang relevan dengan permasalahan yang akan diteliti. Kajian tersebut yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

Tabel 2.1 Hasil peneliti terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
1.	Hemant Kumar Singh, Iffat Parveen, Saurabh Raghuvansh and Shashi B Babbar (2012)	<i>The loci recommended as universal barcodes for plants on the basis of floristic studies may not work with congeneric species as exemplified by DNA barcoding of Dendrobium species</i>	Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gen mana yang cocok digunakan untuk mengidentifikasi jenis anggrek <i>Dendrobium</i> secara akurat. Peneliti membandingkan beberapa gen yang sering digunakan untuk identifikasi tumbuhan, dan menyatakan jika ITS adalah yang paling efektif dalam membedakan	Hasil penelitian ini sudah menunjukkan tentang penanda mana yang baik digunakan untuk identifikasi jenis anggrek <i>Dendrobium</i> namun masih perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan kekerabatan dan evolusi dari spesies tersebut Penelitian Marina Silalahi telah mengidentifikasi berbagai metabolit sekunder pada <i>Syzygium</i>

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			berbagai jenis anggrek Dendrobium. Meskipun demikian, penelitian ini juga menunjukkan bahwa tidak ada satu gen pun yang cocok untuk mengidentifikasi semua jenis tumbuhan.	<i>polyanthum</i> , namun penelitian tentang pengaruh faktor lingkungan terhadap variasi kandungan metabolit sekunder pada <i>Syzygium polyanthum</i> yang tumbuh di berbagai ketinggian masih sangat terbatas
2.	Mônica Bolson, Eric de Camargo Smidt, Marcelo Leandro Brotto, Viviane SilvaPereira	<i>ITS and trnH-psbA as Efficient DNA Barcodes to Identify Threatened Commercial Woody Angiosperms from Southern</i>	Artikel ini membahas identifikasi mana yang efektif untuk angiospermae kayu komersial yang terancam di Hutan Atlantik Brasil. Penanda genetik yang digunakan yaitu ITS,	Penelitian ini telah berhasil menunjukkan potensi penanda molekuler dalam identifikasi spesies, namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
	(2015)	<i>Brazilian Atlantic Rainforests</i>	<i>trnH-psbA</i> , <i>matK</i> , dan <i>rbcL</i> . Menunjukkan hasil bahwa ITS merupakan penanda yang paling efektif untuk identifikasi spesies. Kombinasi ITS dan <i>trnH-psbA</i> juga menunjukkan hasil yang memuaskan. Sedangkan <i>matK</i> menunjukkan efisiensi yang rendah.	bagaimana cara identifikasi yang cepat, akurat, dan mudah diterapkan di lapangan untuk mendukung upaya konservasi angiospermae kayu komersial Hutan Atlantik Brasil Meskipun DNA barcoding sudah sering digunakan untuk mengidentifikasi <i>Syzygium polyanthum</i> , peran DNA barcoding dalam menghitung jumlah individu di

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
				dalam suatu spesies dan deteksi hibridisasi masih memerlukan penelitian lebih lanjut terutama di alam liar
3.	M. H. Buys, H. J. Flint, E. M. Miller, H. Yao, A. R. Caird and R. J. Ganley (2016)	<i>Preparing for the invasion: efficacy of DNA barcoding to discern the host range of myrtle rust (Puccinia psidii) among species of Myrtaceae</i>	Penelitian ini membahas ancaman yang ditimbulkan oleh <i>Puccinia psidii</i> , penyebab penyakit <i>myrtle rust</i> terhadap anggota famili Myrtaceae menggunakan metode DNA barcoding. Penelitian ini menggunakan tiga lokus utama untuk pengenalan spesies, yaitu <i>matK</i> , ITS dan	Dari penelitian tersebut lokus ITS telah terbukti efektif dalam identifikasi <i>Puccinia psidii</i> , penelitian tersebut perlu dikembangkan mengenai database referensi yang lebih komprehensif mencakup spesies Myrtaceae endemik di berbagai wilayah

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			ETS. Hasil analisis menunjukan bahwa ITS memiliki tingkat keberhasilan identifikasi tertinggi diikuti oleh <i>matK</i> dan ETS. Penelitian juga menemukan perbedaan signifikan antara variasi genetik intraspecies dan interspecies, dengan ITS menunjukan kesenjangan paling tinggi yang meningkatkan efektivitas identifikasi.	
4.	M.H. Buys, H. J. Flint. E. M. Miller, H. Yao,	<i>Preparing for the invasions efficacy of DNA barcoding</i>	Penelitian ini membahas ancaman yang ditimbulkan oleh	Dari penelitian tersebut lokus ITS telah terbukti efektif dalam identifikasi

Tabel 2.1 Hasil peneliti terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
	A. R. Caird and R. J. Ganley (2016)	<i>to discern the host range of myrtle rust (Puccinia psidii) among species of Myrtaceae</i>	<i>Puccinia psidii</i> , penyebab penyakit <i>myrtle rust</i> terhadap anggota famili Myrtaceae menggunakan metode DNA <i>barcoding</i> . Penelitian ini menggunakan tiga lokus utama untuk pengenalan species yaitu <i>matK</i> , ITS, dan ETS. Hasil analisis menunjukkan bahwa ITS memiliki tingkat keberhasilan identifikasi tertinggi diikuti oleh <i>matK</i> dan ETS. Penelitian ini juga menemukan	<i>Puccinia psidii</i> , penelitian tersebut perlu dikembangkan mengenai database referensi yang lebih komprehensif mencakup spesies Myrtaceae endemik di berbagai wilayah.

Tabel 2.1 Hasil peneliti terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			perbedaan signifikan antara variasi genetik intraspecies dan interspecies, dengan ITS menunjukkan kesenjangan paling tinggi yang meningkatkan efektivitas identifikasi.	
5.	Marina Silalahi (2017)	<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan)	Penelitian ini membahas tentang <i>Syzygium polyanthum</i> atau daun salam yang merupakan salah satu tumbuhan dari famili Myrtaceae dengan berbagai manfaat, terutama dalam pengobatan tradisional. Penelitian	Penelitian Marina Silalahi telah mengidentifikasi berbagai metabolit sekunder pada <i>Syzygium polyanthum</i> , namun penelitian tentang pengaruh faktor lingkungan terhadap variasi kandungan metabolit sekunder

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			ini menjelaskan tentang karakteristik yang ada pada <i>Syzygium polyanthum</i> dan mengungkapkan bahwa tumbuhan ini dapat tumbuh di beberapa ketinggian. Selanjutnya, penelitian ini menguraikan berbagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh <i>Syzygium polyanthum</i> , seperti minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan terpenoid, serta peranannya dalam pertahanan tumbuhan	pada <i>Syzygium polyanthum</i> yang tumbuh di berbagai ketinggian masih sangat terbatas

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			dan manfaat bagi manusia.	
6.	Brambach F, Byng JW, Culmsee H (2017)	<i>Five new species of Syzygium (Myrtaceae) from Sulawesi, Indonesia</i>	Artikel ini menyajikan temuan yang signifikan mengenai keanekaragaman <i>Syzygium</i> yang ada di Sulawesi dengan ditemukannya lima spesies baru. Hasil dari penelitian ini tidak hanya memberikan deskripsi rinci tentang karakteristik morfologi masing-masing spesies tetapi juga membahas tentang kompleksitas	Penelitian ini hanya melakukan identifikasi dengan pendekatan morfolgi saja untuk mengetahui spesies apakah tersebut dilakukan dengan membuat kunci determinasi dan melakukan perlakuan foristik, , tidak menggabungkan metode konvensional dengan molekuler. Menggabungkan kedua metode tersebut dapat menghasilkan hasil

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			taksonomi dalam genus <i>Syzygium</i> .	analisis yang lebih akurat
				Hasil penelitian ini menunjukkan potensi yang besar untuk lokus ITS dalam identifikasi spesies <i>Syzygium</i> . Namun, perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk menentukan kombinasi lokus optimal yang dapat diterapkan secara
7.	Ian Edwin Coco & Matthew	<i>Plants of the Genus Syzygium (Myrtaceae): A</i>	Penelitian ini memberikan gambaran tentang	Penelitian ini telah menunjukkan bahwa ekstrak <i>Syzygium</i>

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
	Cheesman (2018)	<i>Review on Ethnobotany, Medicinal Properties, and Phytochemistry</i>	tanaman genus <i>Syzygium</i> yang telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Studi menunjukkan bahwa terdapat beberapa <i>Syzygium</i> yang kaya antioksidan yang bermanfaat dalam melindungi tubuh dari kerusakan sel. Selain itu, ekstrak tanaman <i>Syzygium</i> juga dipelajari untuk potensinya dalam mengelola diabetes dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam	memiliki potensi antioksidan dan antidiabetes, namun untuk mekanisme molekuler yang menjadi dasar aktivitas biologis ini masih belum sepenuhnya dipahami

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			metabolisme gula darah. Artikel ini memfokuskan pentingnya genus <i>Syzygium</i> dalam dunia pengobatan.	
8.	Ardhana Yulisma, Zairin Thomy and Essy Harnelly (2018)	<i>Phylogenetic Relationship Within Families Myrtaceae In Tripa Peat Swamp Forest Using Internal Transcribed Spacer (ITS)</i>	Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengungkap hubungan kekerabatan antara beberapa jenis famili Myrtaceae yang hidup di hutan rawa gambut Tripa dengan metode molekuler menggunakan marka ITS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan menganalisis	Hasil penelitian ini menunjukkan potensi yang besar untuk lokus ITS dalam identifikasi spesies <i>Syzygium</i> . Namun, perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk menentukan kombinasi lokus optimal yang dapat diterapkan secara universal pada genus <i>Syzygium</i>

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			ITS, dapat mengelompokkan pohon-pohon dalam famili Myrtaceae berdasarkan hubungan kekerabatannya. Hal ini sangat bermanfaat guna memahami tentang berbagai jenis pohon yang berevolusi dan saling berhubungan satu sama lain.	
9.	Dewi Indriyani Roslim (2019)	<i>Analysis of matK, rbcL and trnL-trnF Intergenic Spacer Sequences on Durik-Durik (Syzygium sp)</i>	Penelitian ini membahas analisis molekuler dari tanaman durik-durik (<i>Syzygium sp</i>), dimana lokus yang digunakan	Hasil penelitian ini menunjukkan potensi yang besar untuk lokus <i>matK</i> dan <i>trnL-trnF</i> dalam identifikasi spesies <i>Syzygium</i> .

Tabel 2.1 Hasil peneliti terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			yaitu <i>matK</i> , <i>rbcL</i> , dan <i>spacer intergenic trnL-trnF</i> . Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa <i>matK</i> dan <i>trnL-trnF</i> lebih bervariasi dan efektif untuk diferensiasi spesies dibandingkan dengan <i>rbcL</i> . Penelitian ini menekankan perlunya data sekuens DNA yang komprehensif dalam basis data publik untuk identifikasi organisme yang akurat	Namun, perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk menentukan kombinasi lokus optimal yang dapat diterapkan secara universal pada genus <i>Syzygium</i>

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

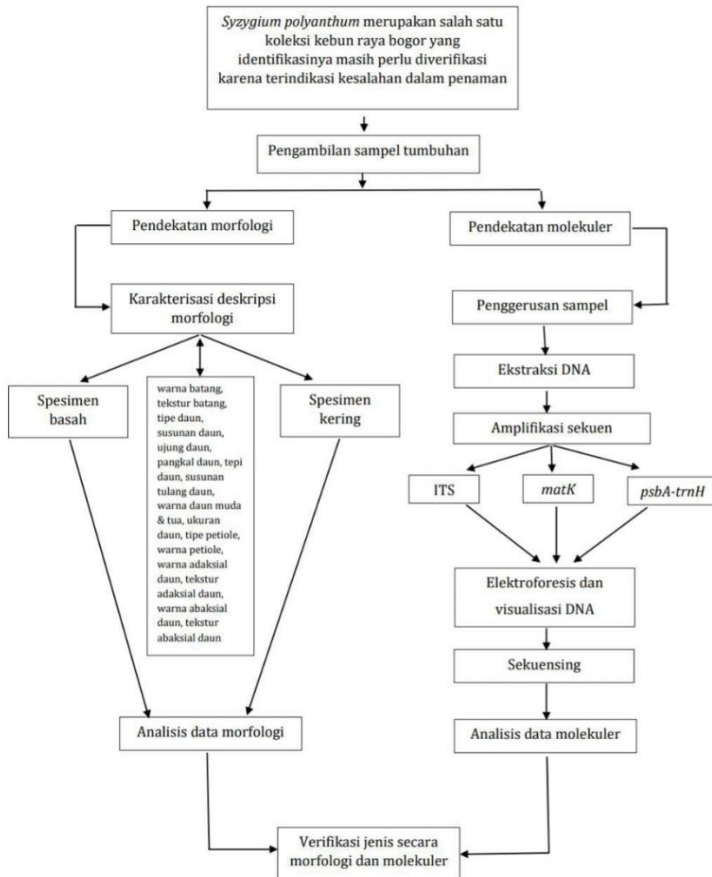
No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
10.	Irfan Martiansyah (2021)	<i>Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik Syzygium (Myrtaceae)</i>	Penelitian ini menekankan pentingnya pendekatan molekuler, seperti DNA <i>barcoding</i> dalam identifikasi analisis filogenetik spesies tanaman. Dengan menggunakan gen penanda yang tepat, peneliti dapat lebih akurat dalam mengidentifikasi spesies dan memahami hubungan kekerabatan diantara tanaman tersebut. Hal ini penting dilakukan untuk konservasi	Meskipun DNA barcoding sudah sering digunakan untuk mengidentifikasi <i>Syzygium polyanthum</i> , peran DNA barcoding dalam menghitung jumlah individu di dalam suatu spesies dan deteksi hibridisasi masih memerlukan penelitian lebih lanjut terutama di alam liar

Tabel 2.1 Hasil penelitian terdahulu

No.	Nama dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Gap Penelitian
			keanekaragaman hayati dan pengelolaan sumber daya alam berkelanjutan.	

Berdasarkan penelitian terdahulu yang disajikan pada tabel 2.1 penelitian ini memiliki nilai kebaruan dalam melakukan verifikasi tumbuhan *S. polyanthum* dengan menggabungkan kedua metode, yaitu morfologi dan molekuler. Penggunaan kedua metode ini secara bersamaan diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih akurat dan komprehensif dibandingkan dengan hanya menggunakan satu metode. Verifikasi yang akurat sangat penting untuk memastikan identifikasi yang tepat dan untuk menghindari kesalahan dalam penelitian taksonomi,

C. Kerangka Berpikir



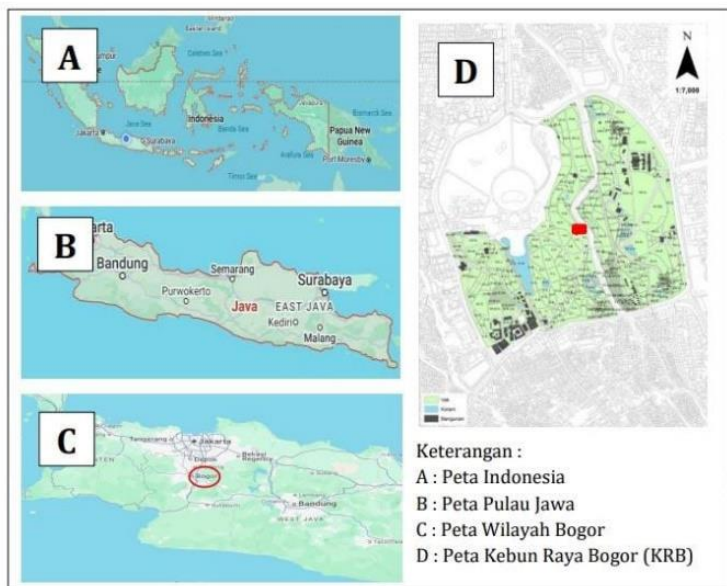
Gambar 2.6 Kerangka Berpikir
Sumber: Pribadi

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 09 Januari – 7 Maret 2024 di Pusat Riset Botani Terapan – BRIN, di Cibinong, Bogor dan analisis data dilakukan pada tanggal 20 Oktober – 20 November 2024 di Laboratorium Biologi Fakultas Saintek UIN Walisongo Semarang.



Gambar 3.1 Peta lokasi pengambilan sampel
Sumber : maps.com

B. Alat dan Bahan

1. Alat

a. Pendekatan Morfologi

Alat yang digunakan dalam melakukan identifikasi morfologi yaitu gunting, alat tulis, plastik, label gantung, kamera, dan *RHS Colour Chart*

b. Pendekatan Molekuler

Alat yang digunakan dalam melakukan penelitian dengan pendekatan molekuler yaitu mortal dan alu, timbangan analitik, spatula, pinset, gelas ukur 100 ml, gelas beker, cetakan & sisir *agarose*, mikropipet ukuran 0,1 μL - 2 μL , 0,5 μL - 2,5 μL , 2 μL - 20 μL , 10 μL - 100 μL , 100 μL - 1000 μL , spindown, heatblock, vortex, inkubator, *sentrifuge*, *hulamixer*, *PCR-Thermal Cycler* (PCRMax), erlenmeyer 125 ml, microwave, elektroforesis, UV tray, dan GelDoc, PCU Komputer, kulkas, freezer, rak mikrotube.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, pasir kuasa, serbuk sampel daun, mikrotube,

tube PCR Mix (2x Mytaq HS Red Mix), marker, *agarosa* 1%, tabung mikro ukuan 0,2 mL, 1,5 mL, 2 mL, *microtip* AXYGEN, *blue tip*, Buffer Tris-acetate EDTA (TAE) 1x, primer *rbcl*, primer ITS, primer *matK*, primer *psbA-trnH*, TIANGEN *Plant Genomic DNA Kit*, Geneaid *Plant Genomic DNA Mini Kit* (GP100), etanol absolut, Gel red, *DNA ladder*.

C. Metode

1. Pendekatan Morfologi

a. Pengambilan Sampel

Sampel *S. polyanthum* diambil dari kebun koleksi tumbuhan di vak V.A.134 dan V.C.141. Vak merupakan sebutan untuk wilayah atau kawasan yang berfungsi untuk memisahkan spesies berdasarkan familinya, sehingga mencegah pencampuran antarspesies dan famili yang berbeda. Sampel yang bukan merupakan koleksi diambil di depan gedung Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Kebun Raya Bogor. Untuk bagian yang diambil yaitu cabang batang yang masih sehat dan bersih. Sampel yang diambil nantinya akan dijadikan sebagai herbarium

kering dan untuk ekstraksi DNA. Setelah sampel diambil dari pohonnya, kemudian sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label sesuai dengan kode pohon, supaya tidak terjadi kekeliruan saat proses identifikasi.

b. Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi tumbuhan *Syzygium* dilakukan dengan menggunakan buku referensi *The Kew Plant Glossary* (Williamsom, 2010). Karakter yang diamati yaitu tipe daun, susunan daun, kelengkapan, stipula, ujung daun, pangkal, tepi, bentuk, susunan tulang daun, *secondary vein* (tulang daun sekunder yang secara jelas terlihat bercabang dari tulang daun utama, hitung beberapa banyak *secondary vein* di kedua sisi daun), *intramarginal vein* (membentuk seperti lengkungan atau lingkaran di dalam batas daun, dihitung seberapa besar *intramarginal vein* yang terbentuk dari tepi daun), warna daun, ukuran panjang daun (diukur dari pangkal hingga ujung daun terjauh daun), dan

lebar (pengukuran dilakukan pada bagian titik terlebar pada daun), petiole (tangkai daun yang menghubungkan daun dengan batang atau ranting tanaman), tekstur daun. Kemudian beberapa bagian batang yaitu warna dan tekstur. Selain menggunakan sampel segar, pengamatan morfologi juga dilakukan di Laboratorium Biosistematika Tumbuhan di Herbarium Bogoriense (BO). Dokumentasi setiap spesimen di BO dilakukan untuk tujuan identifikasi, analisis, dan penyimpanan data jangka panjang.

2. Pendekatan Molekuler

a. Penggerusan Sampel

Daun yang sudah diambil kemudian dipotong sehingga menjadi bagian yang lebih kecil. Daun yang dibutuhkan untuk sampel adalah tanpa tulang daun sehingga lebih memudahkan saat proses penggerusan. Daun yang sudah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam mortar dan ditambahkan dengan pasir silika sebanyak satu sendok spatula. Kemudian sampel digerus dengan

menggunakan pastle. Sampel yang sudah halus kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube 2 ml sebanyak 0.1 gram. Sampel yang tidak digunakan kemudian disimpan dalam mikrotube 2 ml untuk dijadikan sebagai stok, Pastikan untuk memberi label pada sampel agar tidak tertukar dengan yang lain.

b. Ekstraksi DNA

1) Metode Kit Geneaid

Sampel dimasukkan ke dalam microtube 1,5 mL, setelah itu ditambahkan dengan buffer GT sebanyak 200 µl, lalu divortex. Setelah itu, ditambahkan dengan proteinase K sebanyak 20 µl, lalu diinkubasi pada suhu 60°C, selama masa inkubasi berlangsung dilakukan *invert* setiap 5 menit sekali. Setelah itu, sebanyak 200 µl buffer GT ditambahkan dalam microtube, lalu diinkubasi dalam waktu 20 menit, jangan lupa dalam 5 menit sekali *diinvert*. Dalam tahap ini juga dilakukan inkubasi elution buffer sebanyak 200 µl. setelah diinkubasi

ditambahkan sebanyak 4 µl RNase, kemudian kocok kuat-kuat, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian, ditambahkan 200 µl etanol absolut, lalu kocok kuat-kuat selama 10 detik. GS column diletakkan dalam collection tube 2 mL yang baru. Ditambahkan 400 µl W1 buffer ke dalam GS column, lalu disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm dalam waktu 30 detik. *Flow trough* yang telah terbentuk dibuang, lalu diletakkan kembali GS column ke dalam *collection tube* 2 mL. Kemudian, ditambahkan 600 µl wash buffer, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm dalam waktu 30 detik. *Flow trough* yang terbentuk dibuang, lalu diletakkan kembali GS column ke dalam *collection tube* 2 mL. Setelah itu, disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit. Kemudian, GS column yang telah kering dipindahkan ke dalam microtube 1,5 mL

yang baru. Kemudian, ditambahkan buffer TE yang sudah diinkubasi tadi sebanyak 100 μ l. Didiamkan selama 5 menit untuk memastikan elution buffer terserap sempurna. Kemudian, disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm dalam waktu 30 detik. Tahapan terakhir, simpan hasil isolasi DNA pada suhu -20°C .

2) Metode Kit Tiangen

Sebelum melakukan proses ekstraksi, buffer GP 1 dipanaskan terlebih dahulu sebanyak 700 μ l. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam microtube 1,5 mL sebanyak 100 mg. Buffer GP 1 yang sudah dipanaskan, dimasukkan ke dalam microtube yang sudah berisi sampel, kemudian divortex hingga terlarut sempurna. Kemudian sampel diinkubasi pada suhu 65°C dalam waktu 20 menit, setiap 5 menit sekali *diinvert*. Kemudian sebanyak 700 μ l kloroform ditambahkan, lalu divortex. Setelah itu sampel disentrifugasi dengan kecepatan 12.000

rpm dalam waktu 5 menit. Setelah disentrifugasi akan terbentuk dua larutan yaitu pelet dan supernatan, bagian supernatan dipipet dengan hati-hati, lalu dipindahkan ke dalam microtube yang baru. Sebanyak 700 μ l buffer GP2 ditambahkan dan divortex dalam waktu 30 detik. Kemudian spin column CB3 diletakkan ke dalam *collection tube*, dipindahkan seluruh larutan pada langkah sebelumnya ke dalam spin column. Setelah itu, disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm dalam waktu 30 detik, dibuang filtrat yang terbentuk. Catatan, apabila volume larutan lebih dari 700 μ l, diulangi langkah sebelumnya dengan menggunakan spin column yang sama. Selanjutnya, sebanyak 500 μ l buffer GD ditambahkan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm dalam waktu 30 detik, lalu filtrat yang terbentuk dibuang. Kemudian, sebanyak 600 μ l buffer pw ditambahkan, disentrifugasi

selama 30 detik dengan kecepatan 12.000 rpm, *flow trough* yang terbentuk dibuang. Diulangi langkah sebelumnya. Setelah itu, spin column CB3 diletakkan dalam *collection tube*, disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, *flow trough* yang terbentuk dibuang. Kemudian, dibuka tutup spin column CB3, lalu didiamkan pada suhu ruang (15-30°C) selama 3 menit sampai membran benar-benar kering. Spin column CB3 diletakkan ke dalam microtube baru, lalu ditambahkan sebanyak 100 µl buffer TE ke tengah membran spin column CB3. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang (15-30°C) selama 3 menit, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit. Terakhir, hasil ekstraksi tersebut disimpan pada suhu -20°C.

c. Verifikasi Menggunakan Sekuen *rbcl*

Berhasil atau tidaknya DNA saat proses isolasi, dapat diketahui dengan pengujian

menggunakan PCR dengan primer *universal* tumbuhan (*rbcL*). Primer *rbcL* ini memiliki sekuen *rbcL* forward (5'-ATG-TCA-CCA-CAA-CAG-AGA-ACT-AAA-GC-3') dan primer *rbcL* reverse (5'-GTA-AAA-TCA-AGT-CCA-CCR-CG-3'). Reagen PCR Mix yang sudah disiapkan dengan rincian (Tabel 1) dimasukkan ke dalam mikrotube ukuran 0,2 ml. Setelah itu, reagen tersebut dilakukan spin down selama kurang lebih 5 detik. Reagen yang telah homogen tersebut kemudian diletakkan pada mesin *Thermal Cycler*. Profil suhu untuk pengujian ini terdapat beberapa tahapan yaitu pra denaturasi dengan suhu 94°C selama 4 menit, kemudian dilanjutkan dengan denaturasi sebanyak 30 siklus dengan suhu 94°C selama 15 detik, *annealing* dengan suhu 52°C selama 15 detik, kemudian ekstensi dengan suhu 72°C selama 15 detik. Kemudian terakhir yaitu post-ekstensi dengan suhu 72°C selama 5 menit. Berikut merupakan tabel reagen PCR Mix

Tabel 3.1 Komponen PCR Mix

NO	Komponen	Volume Reagen (µl)
1.	PCR PreMix (MyTaq HS Red Mix, 2x)	3 µl
2.	ddH ₂ O	1 µl
3.	DNA <i>template</i>	1 µl
4.	Primer <i>Forward</i>	0.5 µl
5.	Primer <i>Reverse</i>	0.5 µl
Jumlah Total		6 µl

d. Amplifikasi Sekuen ITS, *matK*, dan *psbA-trnH*

Komposisi amplifikasi menggunakan gen ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* itu PCR *Master Mix* sebanyak 25 µL, ddH₂O 16 µL, peimer *forward* 2 µL, primer *reverse* 2 µL, dan sampel DNA 5 µL. Kondisi PCR yang digunakan untuk gen ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* berbeda-beda untuk suhu dan waktunya. Namun untuk tahapannya sama yaitu pra-denaturasi, denaturasi, *annealing*, ekstensi, dan pos-ekstensi. Tahap terakhir dalam PCR yaitu tahap terminasi (penyimpanan) pada suhu 4°C. Berikut tabel masing-masing suhu dan waktu tiap gen

Tabel 3.2 Primer yang digunakan

No	Primer	Sekuen
1.	ITS (ITS1_17SE)	ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTGTTCG (Sun <i>et al.</i> , 1994)
2.	ITS (ITS2_26SE)	TAGAATTCCCCGGTTCGCTCGCCGTTAC (Sun <i>et al.</i> , 1994)
3.	<i>matK</i> (Kim3_F)	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG (Kim unpublished)
4.	<i>matK</i> (Kim1_R)	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC (Kim unpublished)
5.	<i>TrnH-psbA</i> (f1)	ACTGCCTTGATCCACTTGGC (Kress & Erickson., 2007)
6.	<i>TrnH-psbA</i> (f2)	CGAAGCTCCATCTACAAATGG (Kress & Erickson., 2007)

Tabel 3.3 Rincian suhu dan waktu tiap region

DNA Region	Tahapan	Suhu	Waktu
ITS	Pra-denaturasi	94°C	3 menit
	Denaturasi	94°C	1 menit
	Annealing	58°C	1 menit
	Ekstensi	72°C	2 menit
	Pos-ekstensi	72°C	5 menit
<i>matK</i>	Pra-denaturasi	94°C	3 menit
	Denaturasi	94°C	45 detik
	Annealing	54°C	1 menit
	Ekstensi	72°C	1 menit

Tabel 3.3 Rincian suhu dan waktu tiap region

DNA Region	Tahapan	Suhu	Waktu
<i>psbA-trnH</i>	Pos-ekstensi	72°C	7 menit
	Pra-denaturasi	94°C	3 menit
	Denaturasi	94°C	30 detik
	Annealing	55°C	1 menit
	Ekstensi	72°C	1 menit
	Pos-ekstensi	72°C	7 menit

e. Elektroforesis dan Visualisasi DNA

Visualisasi DNA dilakukan dengan teknik elektroforesis dengan menggunakan agarose 1%. Serbuk agarosa ditimbang sebanyak 0,8 gram dan diamsukan ke dalam erlenmeyer yang memiliki ukuran 125 ml. Setelah itu ditambahkan dengan TAE 1x sebanyak 80 ml. Kemudian erlenmeyer ditutup dengan menggunakan palstik *wrap* dan diberi lubang kecil-kecil pada penutupnya. Kemudian dimasukkan ke dalam *microwave* selama 2 menit dan tiap satu menit dicek dan digoyang untuk menghomogenkan larutan. Setelah itu didiamkan terlebih dahulu hingga suam-suam

kuku, kemudian dimasukkan sebanyak 1 μ l GelRed dan dihomogenkan.

Setelah itu, agarosa dituangkan ke dalam cetakan elektroforesis yang telah diberi sisir elektroforesis. Kemudian didiamkan hingga mengeras. Setelah itu, gel dikeluarkan dari cetakan elektroforesis dan sisir elektroforesisnya juga dilepaskan. Selanjutnya agar dimasukkan ke dalam elektroforesis yang sudah diberi TAE 1x. Kemudian, pada tiap-tiap sumuran dimasukkan sebanyak 5 μ l sampel DNA yang sudah diamplifikasi sebelumnya. Untuk sumuran yang pertama dimasukkan 1 μ l ladder sebagai marker yang akan menunjukkan ukuran pita DNA (bp). Kemudian dilakukan elektroforesis pada tegangan 100 Volt dengan waktu 30 menit.

Setelah proses running elektroforesis selesai, gel diangkat dan diletakkan pada UV *sample try* untuk divisualisasi menggunakan Gel-Doc tipe BIO-RAD EZ Imager, yang telah tersambung dengan sistem komputer sehingga tampak hasil akhir berupa pita DNA

f. Sekuensing

Proses *sekuensing* dilakukan dengan cara mengirimkan hasil amplifikasi PCR melalui perusahaan perantara, yaitu PT. Genetika Science Indonesia, ke laboratorium 1st Base yang berlokasi di Singapura.

D. Analisis Data

1. Pendekatan Morfologi

Karakter morfologi yang telah didapatkan dianalisis menggunakan perangkat lunak PAST.11. Skoring dilakukan pada 10 karakter yang terdiri dari tipe daun, susunan daun, kelengkapan daun, stipula daun, ujung daun, pangkal daun, tepi daun, bangun daun, susunan tulang daun, dan tipe petiole. Pemilihan karakter morfologi didasarkan pada buku panduan identifikasi. Skoring digunakan untuk memberikan nilai terhadap keberadaan karakter setiap spesimen. Kemudian data skoring dimasukkan dalam perangkat lunak PAST. 11 yang kemudian dapat menghasilkan pohon filogenetik dan grafik *Principal component analysis* (PCA) yang dapat digunakan untuk

menentukan hubungan kekerabatan berdasarkan kesamaan karakter.

Analisis hubungan kekerabatan antar sampel dilakukan berdasarkan hasil pohon filogenetik dan PCA. Identifikasi spesies tumbuhan yang menjadi objek penelitian dilakukan melalui perbandingan morfologi antara dokumentasi pribadi dengan spesimen herbarium yang tersimpan di Herbarium Bogoriens (BO). Selain itu, database GBIF juga digunakan untuk memperluas cakupan pencarian dan verifikasi identifikasi.

2. Pendekatan Molekuler

a. Analisis Data Sekuen

Urutan basa nukleotida hasil sekuensing berupa kromatogram dilakukan pengeditan, menghilangkan bagian ujung yang kurang baik, kemudian disatukan menjadi satu urutan lengkap dinamakan dengan *contig*. *Contig* ini kemudian dibandingkan dengan database genetik NCBI menggunakan perangkat lunak MEGA untuk mencari kemiripannya.

b. BLASTing

Hasil analisis data yang sudah terbentuk dibandingkan dengan semua data DNA yang ada di NCBI. Berdasarkan hasil pencarian, sepuluh spesies terpilih dari urutan teratas yang menunjukkan kemiripan morfologi dan genetik paling tinggi dengan genus *Syzygium*. Urutan yang sudah dipilih kemudian diunduh dalam format FASTA untuk dianalisis lebih lanjut.

c. Rekontruksi Pohon Filogenetik

Data yang sudah diunduh dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan *software* MEGA 11. Data ini akan disusun dan dibandingkan satu dengan yang lain. setelah itu, dibuat pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ). Analisis *bootstrap* sebanyak 1000 kali dilakukan untuk mengukur tingkat kepercayaan cabang pada pohon filogenetik.

Penelitian ini penulis membandingkan pohon filogenetik yang sudah terbentuk berdasarkan data sekuen menggunakan

penanda molekuler ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* untuk mengidentifikasi penanda molekuler yang paling tepat dalam merekonstruksi hubungan filogenetik pada genus *Syzygium*.

BAB IV

PEMBAHASAN

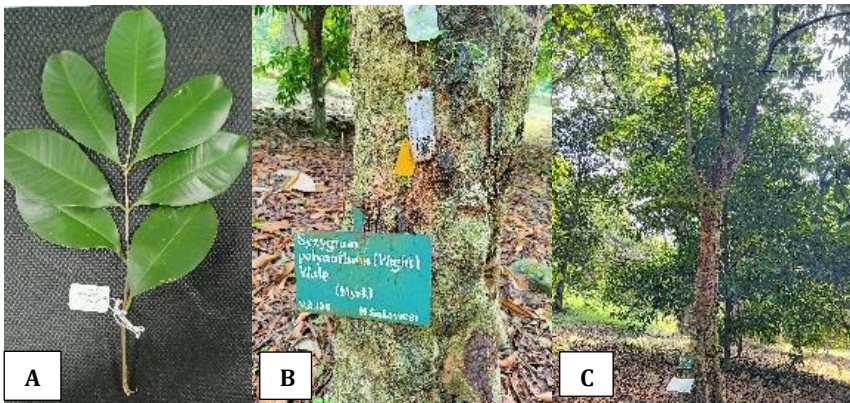
A. DESKRIPSI HASIL PENELITIAN

1. Morfologi Tumbuhan

Penelitian ini memiliki tujuan untuk memverifikasi tumbuhan *Syzygium* yang terdapat di KRB. Di sana terdapat dua pohon yang sudah memiliki label dengan nama *S. polyanthum* dengan nomor vak yaitu V.A.134 dan V.C.141. Label tersebut juga memiliki keterangan bahwa *Syzygium* tersebut berasal dari Sulawesi. Peneliti melakukan pengamatan morfologi tumbuhan tersebut, kemudian mendapatkan hasil yaitu:

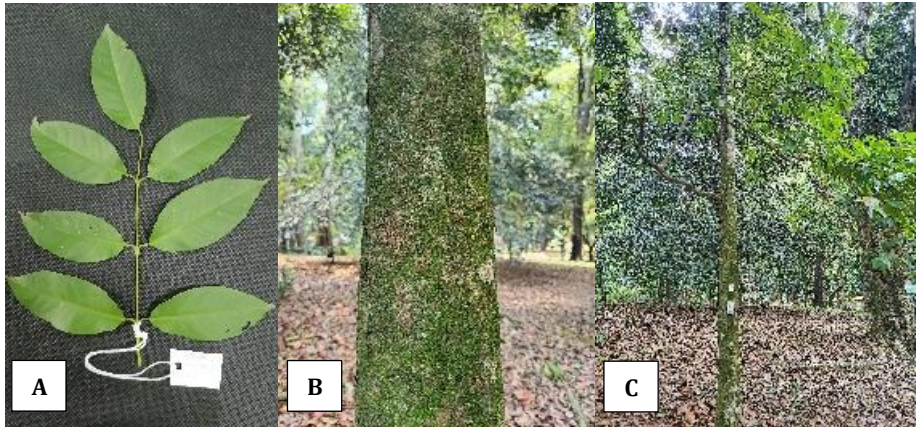
Tumbuhan pada gambar 4.1 memiliki ciri morfologi tipe daun tunggal dengan susunan daun opposite, merupakan daun yang tidak lengkap, tidak memiliki stipula daun, ujung daun berbentuk emarginate, pangkal daun cuneate, tepi daun entire, bangun daun obovate, susunan tulang daun brochidodromous, *secondary vein* sebanyak sebelas. Memiliki ukuran intramarginal vein sebesar 0,3 cm dari tepi daun, daun berwarna hijau muda ketika muda, hijau tua ketika dewasa, ukuran

panjang daun 12,7 cm, ukuran lebar daun 5,75 cm, ukuran petiole 2,89 mm, tipe petiole petiolate, dengan tekstur terete, warna petiole kuning kehijauan kusam, warna adaksial daun NN137 Greyish Olive Green A, tekstur adaksial daun halus/gundul, warna abaksial daun 146 Moderate Yellow Green C. Warna batang cokelat kemerahan, tekstur batang mengelupas, warna ranting cokelat krem sangat pucat, tekstur ranting terete.



Gambar 4.1. Tumbuhan *Syzygium* vak V.A.134 (a) daun
(b) batang (c) perawakan

Sumber: dokumentasi pribadi (17/01/24)



Gambar 4.2. Tumbuhan *Syzygium* vak V.A.141 (a) daun
(b) batang (c) perawakan
Sumber : dokumentasi pribadi (17/01/23)

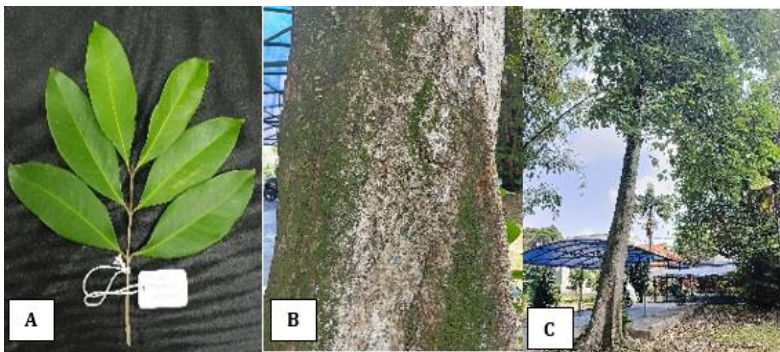
Syzygium dengan vak V.A.141 seperti yang ditunjukkan oleh gambar 4.2 memiliki ciri morfologi yaitu tipe daun tunggal, susunan daun opposite, daunnya tidak lengkap, stipula daun tidak ada, ujung daun caudate, pangkal daun obtuse, tepi daun entire, bangun daun lanceolate, susunan tulang daun brochidodromous. *Secondary vein* sebanyak sepuluh, intramarginal vein 0,3 dari tepi daun, warna daun muda hijau muda, warna daun dewasa hijau tua, ukuran panjang daun 14,3 cm, ukuran lebar daun 5,7 cm, ukuran petiole 3,49 mm, tipe petiole petiolate, tekstur petiole terete, warna

petiole kuning kehijauan kusam, warna adaksial daun 137 Moderate Olive Green B, tekstur adaksial daun halus/gundul, warna abaksial daun 138 Moderate Yellow Green C, tekstur abaksial daun halus/gundul. Warna batang orange merah muda, tekstur batang mengelupas, warna ranting kuning kehijauan kusam, tekstur ranting terete.

Kebun Raya Bogor memiliki satu pohon yang terindikasi merupakan *S. polyanthum* karena memiliki ciri morfologi seperti daun salam pada umumnya, serta memiliki bau khas herbal. Pohon ini bukan salah satu koleksi KRB, melainkan pohon liar yang keberadaannya di kawasan kebun. Peneliti sebut sebagai pohon Non Koleksi (NK) Pohon ini bisa digunakan sebagai pembanding peneliti dalam proses verifikasi yang ditunjukkan pada gambar 4.3.

Pohon pada gambar 4.3 memiliki ciri morfologi yaitu tipe daun yang tunggal dengan susunan daun opposite, termasuk daun yang kelengkapannya tidak lengkap, tidak memiliki stipula daun, ujung daun attenuate, pangkal daun obtuse, tepi daun entire, bangun daun lanceolate,

susunan tulang daun brochidodromous, jumlah *secondary vein* yang dapat terlihat jelas ada tujuh, memiliki ukuran intramarginal vein 0,3 cm dari tepi daun, memiliki warna hijau muda ketika daun masih muda, hijau tua ketika daun dewasa, ukuran panjang daun 9,8 cm, lebar daun 3,3 cm, ukuran petiole 2,03 mm, tipe petiole petiolate, tekstur petiole terete, warna petiole kuning kecoklatan kusam, warna adaksial daun NN137 Greyish Olive Green B, tekstur adaksial daun halus/gundul, warna abaksial daun 146 Moderate Yellow Green C, tekstur abaksial daun halus/gundul, warna batang cokelat kekuningan, tekstur batang mengelupas, warna ranting cokelat kemerahan, tekstur ranting terete.



Gambar 4.3. Tumbuhan *Syzygium* bukan koleksi (a) daun (b) batang (c) perawakan Sumber: dokumentasi pribadi (17/01/23)

Tabel 4.1 Ciri morfologi *S. polyanthum*

Karakteristik	<i>S. polyanthum</i> (NK)	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134)	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141)
Tipe Daun	Tunggal	Tunggal	Tunggal
Susunan Daun	Opposite	Opposite	Opposite
Kelengkapan Daun	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap
Stipula Daun	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada
Ujung Daun	Attenuate	Emarginate	Caudate
Pangkal Daun	Obtuse	Cuneate	Obtuse
Tepi Daun	Entire	Entire	Entire
Bangun Daun	Lanceolate	Obovate	Lanceolate
Susunan Tulang Daun	Brochidodromous	Brochidodromous	Brochidodromous
Secondary Vein (Jelas)	7	11	10
Intramarginal Vein (cm)	0,3 dari tepi daun	0,3 dari tepi daun	0,3 dari tepi daun

Tabel 4.1 Ciri morfologi *S. polyanthum*

Karakteristik	<i>S. polyanthum</i> (NK)	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134)	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141)
Warna Daun Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda
Warna Daun Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua
Ukuran Panjang Daun (cm)	9,8	12,7	14,3
Ukuran Lebar Daun (cm)	3,3	5,75	5,7
Ukuran Petiole (mm)	2,03	2,89	3,49
Tipe Petiole	Petiolate	Petiolate	Petiolate
Tekstur Petiole	Terete	Terete	Terete
Warna Petiole	Khaki (kuning kecoklatan kusam)	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)
Warna Adaksial Daun	NN137 Greyish Olive Green B	NN137 Greyish Olive Green A	137 Moderate Olive Green B

Tabel 4.1 Ciri morfologi *S. polyanthum*

Karakteristik	<i>S. polyanthum</i> (NK)	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134)	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141)
Tekstur Adaksial Daun	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul
Warna Abaksial Daun	146 Moderate Yellow Green C	146 Moderate Yellow Green C	138 Moderate Yellow Green C
Tekstur Abaksial Daun	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul
Batang			
Warna Batang	Fawn (cokelat kekuningan muda)	Cinnamon (Cokelat Kemerahan)	Apricot (Orange-Merah Muda)
Tekstur Batang	Flaking/Mengelupas	Flaking/Mengelupas	Flaking/Mengelupas
Warna Ranting	Cinnamon (Cokelat Kemerahan)	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)

Tabel 4.1 Ciri morfologi *S. polyanthum*

Karakteristik	<i>S. polyanthum</i> (NK)	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134)	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141)
Tekstur Ranting	Terete	Terete	Terete

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa antara *Syzygium* koleksi KRB dengan Vak V.A.134 dan V.C.141 memiliki persamaan dengan *Syzygium* NK pada tipe daunnya yang tunggal, susunan daun opposite, merupakan daun yang tidak lengkap, tidak memiliki stipula daun, tepi daun entire, susunan tulang daun brochidodromous, tipe petiole petiolate, dan tekstur petiole terete. Sampel dengan nomor Vak V.A.134 dan V.C.141 secara morfologi termasuk ke dalam *S. polyanthum* karena memiliki sebanyak enam belas persamaan dari dua puluh tujuh karakteristik yang digunakan sebagai pembanding. Bagian yang paling menonjol yang dimiliki oleh ketiga jenis tersebut yaitu daun yang tidak memiliki stipula, karena salah satu ciri khas dari famili Myrtaceae yaitu daun tidak berstipula (Rahma *et al.*, 2023). Ketiga sampel *S. polyanthum* tersebut dilakukan perbandingan morfologi bagian daunnya menggunakan teknik kunci determinasi. Melalui kunci determinasi, penulis dapat menentukan jenis tumbuhan dengan cara membandingkan tumbuhan satu dengan tumbuhan yang lain yang telah diketahui. Teknik ini

menekankan prinsip bahwa setiap tumbuhan memiliki karakteristik unik yang dapat membedakannya dengan tumbuhan yang lain. (Galingging *et al.*, 2022). Berikut disajikan tabel kunci determinasi dari *S. polyanthum* dengan kode sampel V.A.134, V.C.141, dan NK:

- 1a.** Ujung daun caudate.....**VC**
- 1b.** Ujung daun tidak caudate (attenuate atau emarginate).....**2**
- 2a.** Ujung daun emarginate; pangkal daun cuneate; *secondary vein* 11; warna petiole citrine; warna adaksial daun NN 137 greyish olive green A; warna abaksial daun 146 moderate yellow green C; warna batang cinnamon; warna ranting beige.....**VA**
- 2b.** Ujung daun attenuate; pangkal daun obtuse; *secondary vein* 7; warna petiole khaki; warna adaksial daun NN 137 Greyish Olive Green B; warna abaksial daun 146 moderate yellow green C; warna batang fawn; warna ranting cinnamon.....**NK**

Keterangan :

NK : *S. polyanthum* (NK)

VA : *S. polyanthum* (V.A.134)

VC : *S. polyanthum* (V.C.141)

Melakukan perbandingan *S. polyanthum* dengan beberapa jenis koleksi KRB dan koleksi herbarium di Bogoriense (BO) juga perlu dilakukan untuk memahami hubungan antar individu yang sedang diteliti. Oleh karena itu, peneliti melakukan pengamatan terhadap spesies *Syzygium* lain. Spesies terpilih yaitu merupakan *Syzygium* yang diketahui atau tertulis dalam label berasal dari Sulawesi.

Bagian vegetatif tumbuhan *S. polyanthum* dideskripsikan menggunakan istilah botani latin yang mengacu pada buku *The Kew Plant Glossary, an illustrated dictionary of plant terms*. Susunan daun yang berhadapan (opposite). Ujung daun meruncing (attenuate), tumpul (obtuse), runcing dan memanjang menyerupai ekor (caudate), runcing (acute), memiliki lekukan kecil di bagian tengah sehingga membentuk seperti huruf “V” terbalik (emarginate). Pangkal daun menyerupai jantung yang tidak terlalu jelas (subcordate), tidak simetris (asymmetrical), tumpul (obtuse). Tepi daun rata (entire). Bentuk daun memanjang meruncing di kedua ujungnya dan bagian terlebar

daun berada di depan pangkal (lanceolate), bulat telur (ovate), bulat telur terbalik (obovate), lanset dan lonjong (lanceolate-oblong). Susunan tulang daun dengan tulang sekuender yang melengkung ke atas dan menyambung satu sama lain di dekat tepi daun (brochidodromous), pola dimana tulang sekunder melengkung ke atas ada yang menyambung dan tidak (brochidodromous-camptodromous). Tipe petiole yang memiliki tangkai daun yang terlihat jelas (petiolate). Tekstur petiole dengan penampang melintang yang bulat (terete). Bagian yang berhubungan dengan warna pada tumbuhan mengacu pada (*Royal Horticultural Society*) RHS Colour Chart.

Data morfologi yang sudah didapatkan dilakukan analisis filogenetik dan *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengetahui hubungan kekerabatan sampel yang dianalisis. Grafik PCA ini terbentuk dari tiga sampel *S. polyanthum* (NK, V.A.134, dan V.C.141), sampel *Syzygium* koleksi KRB dan Herbarium BO. Hasil analisis data filogenetik dan PCA ditunjukkan seperti gambar 4.4 dan gambar 4.5.

Tabel 4.2 Ciri morfologi *Syzygium* pembandingan koleksi KRB

Karakteristik	<i>S. claviflorum</i>	<i>S. formosum</i>	<i>S. jambos</i>	<i>S. malaccense</i>	<i>S. polycephaloides</i>	<i>S. reindwartianum</i>	<i>P. guajava</i>
Tipe Daun	Tunggal	Tunggal	Tunggal	Tunggal	Tunggal	Tunggal	Tunggal
Susunan Daun	Opposite	Opposite	Opposite	Opposite	Opposite	Opposite	Opposite
Kelengkapan Daun	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap	Tidak Lengkap
Stipula Daun	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada
Ujung Daun	Attenuate	Obtuse	Caudate	Obtuse	Acute	Emarginate	Acute
Pangkal Daun	Subcordate	Subcordate	Asymmetrical	Obtuse	Subcordate	Obtuse	Obtuse
Tepi Daun	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire
Bangun Daun	Lanceolate	Ovate	Lanceolate	Lanceolate	Obovate	Ovate	Lanceolate-oblong

Tabel 4.2 Ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi KRB

Karakteristik	<i>S. claviflorum</i>	<i>S. formosum</i>	<i>S. jambos</i>	<i>S. malaccense</i>	<i>S. polycephaloides</i>	<i>S. reindwartianum</i>	<i>P. guajava</i>
Susunan Tulang Daun	Brochidodromous	Brochidodromous	Brochidodromous	Brochidodromous	Brochidodromous - Camptodromous	Brochidodromous - Camptodromous	Brochidodromous
Secondary Vein (Jelas)	33	7	12	18	23	9	18
Intramarginal Vein (cm)	0,2 dari tepi daun	0,6 dari tepi daun	0,1 dari tepi daun	0,5 dari tepi daun	0,3 dari tepi daun	0,2 dari tepi daun	0,2 dari tepi daun
Warna Daun Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda	Hijau Muda
Warna Daun Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua	Hijau Tua
Ukuran Panjang Daun (cm)	22,2	13,6	11,15	27,85	27,15	13,6	10,5

Tabel 4.2 Ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi KRB

Karakteristik	<i>S. claviflorum</i>	<i>S. formosum</i>	<i>S. jambos</i>	<i>S. malaccense</i>	<i>S. polycephaloides</i>	<i>S. reindwartinum</i>	<i>P. guajava</i>
Ukuran Lebar Daun (cm)	5,45	9,55	2,55	8,65	9,75	6,85	4,25
Ukuran Petiole (mm)	2,66	3,58	1,82	5,07	5,15	1,92	2,52
Tipe Petiole	Petiolate	Petiolate	Petiolate	Petiolate	Petiolate	Petiolate	Petiolate
Tekstur Petiole	Terete	Terete	Terete	Terete	Terete	Terete	Terete
Warna Petiole	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)	Tawny (Kuning Kecoklatan Kusam)	138 Moderate Yellow Green B	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)	193 Moderate Yellow Green D	138 Moderate Yellow Green B	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)
Warna Adaksial Daun	138 Moderate Yellowish Green A	137 Moderate Olive Green A	Greyish Olive Green A	NN 137 Greyish Olive Green A	NN 137 Greyish Olive Green	138 Moderate Yellowish Green A	NN137 Greyish Olive Green B

Tabel 4.2 Ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi KRB

Karakteristik	<i>S. claviflorum</i>	<i>S. formosum</i>	<i>S. jambos</i>	<i>S. malaccense</i>	<i>S. polycephaloides</i>	<i>S. reindwartinum</i>	<i>P. guajava</i>
Tekstur Adaksial Daun	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul
Warna Abaksial Daun	138 Moderat e Yellow Green B	146 Moderate Yellow Green D	138 Moderate Yellow Green B	138 Moderate Yellow Green B	146 Moderate Yellow Green D	146 Moderate Yellow Green C	146 Moderate Yellow Green C
Tekstur Abaksial Daun	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul	Halus/Gundul
Batang							
Warna Batang	Chestenut (Cokelat Kemerahan)	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)	Chestenut (Cokelat Kemerahan)	Chestenut (Cokelat Kemerahan)	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)	Ashen (Abu-abu Pucat)	Chestenut (Cokelat Kemerahan)

Tabel 4.2 Ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi KRB

Karakteristik	<i>S. claviflorum</i>	<i>S. formosum</i>	<i>S. jambos</i>	<i>S. malaccense</i>	<i>S. polycephaloides</i>	<i>S. reindwartianum</i>	<i>P. guajava</i>
Tekstur Batang	Flaking/ Mengelupas	Flaking/M engelupas	Fissured/ Retak	Flaking/M engelupas	Flaking/M engelupas	Fissured/ Retak	Flaking/Menge lupas
Warna Ranting	Citrine (Kuning Kehijauan Kusam)	Tawny (Kuning Kecoklatan Kusam)	138 Moderate Yellow Green B	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)	193 Moderate Yellow Green D	138 Moderate Yellow Green B	Beige (Cokelat Krem Sangat Pucat)
Tekstur Ranting	Terete	Terete	Terete	Terete	Angular	Terete	Terete

Tabel 3 4. Ciri morfologi Syzygium pembandingan koleksi herbarium

Nama Tumbuhan	Tipe Daun	Susunan Daun	Kelengkapan Daun	Stipula Daun	Ujung Daun	Pangkal Daun	Tepi Daun
<i>S. acumitatissimum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Obtuse	Entire
<i>S. acutangulum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acute	Rounded	Entire
<i>S. affasum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acute	Attenuate	Entire
<i>S. antisepticum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Obtuse	Entire
<i>S. aqueum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Mucronate Apiculate	Obtuse	Entire
<i>S. balgooyi</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Rounded	Attenuate	Entire
<i>S. borneense</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Rounded	Cuneate	Entire
<i>S. botaanense</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Cuneate	Entire
<i>S. celebicum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Attenuate	Entire
<i>S. caudiferum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Obtuse	Acuminate	Entire
<i>S. nigricans</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Obtuse	Entire
<i>S. cinnamomeum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Cuneate	Entire
<i>S. claviflorum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Rounded	Entire

Tabel 3 4. Ciri morfologi Syzygium pembanding koleksi herbarium

Nama Tumbuhan	Tipe Daun	Susunan Daun	Kelengkapan Daun	Stipula Daun	Ujung Daun	Pangkal Daun	Tepi Daun
<i>S. contiguum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Cordate	Entire
<i>S. cumini</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Cuneate	Entire
<i>S. cymosum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Attenuate	Entire
<i>S. densiflorum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Asymmetrical	Entire
<i>S. discophorum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Obtuse	Entire
<i>S. everettii</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Cuneate	Entire
<i>S. fastigiatum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Attenuate	Entire
<i>S. galanthum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Obtuse	Entire
<i>S. kinabaluense</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Obtuse	Repand
<i>S. polyanthum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Obtuse	Entire
<i>S. linaetum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Cuneate	Entire
<i>S. litorale</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Cuneate	Entire
<i>S. rosenbluthii</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Cuneate	Entire
<i>S. panduriforme</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Obtuse	Attenuate	Entire
<i>S. phaeostictum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Cuneate	Entire

Tabel 3 4. Ciri morfologi Syzygium pembanding koleksi herbarium

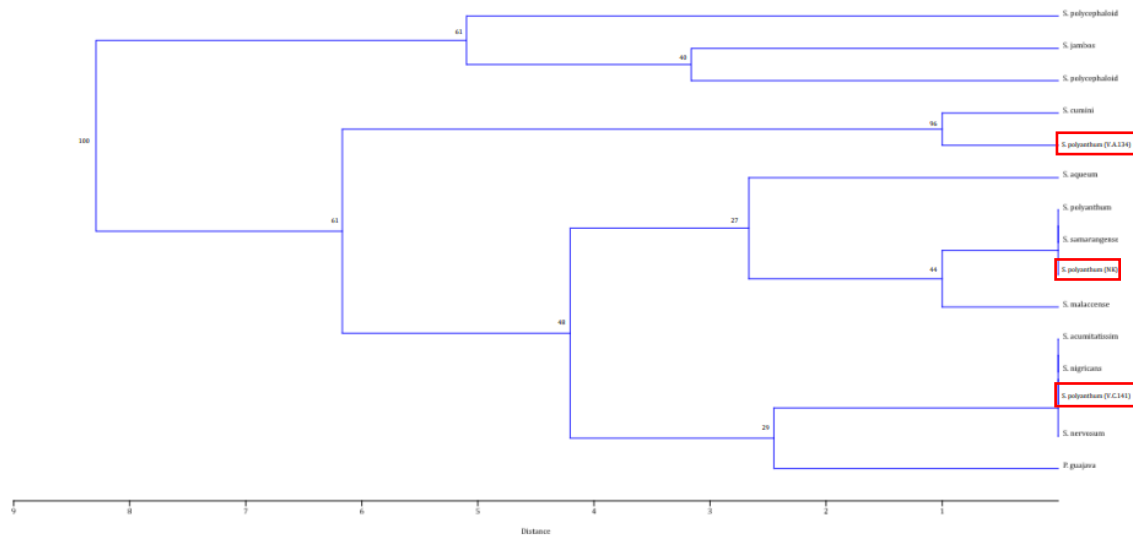
Nama Tumbuhan	Tipe Daun	Susunan Daun	Kelengkapan Daun	Stipula Daun	Ujung Daun	Pangkal Daun	Tepi Daun
<i>S. polycephalum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Obtuse	Cuneate	Entire
<i>S. polycephaloides</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Obtuse	subcordate	Entire
<i>S. pseudojambolana</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Obtuse	Obtuse	Entire
<i>S. pycnanthum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Obtuse	Entire
<i>S. rosenbluthii</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Obtuse	Entire
<i>S. salignum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Caudate	Attenuate	Entire
<i>S. samarangense</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Obtuse	Entire
<i>S. schumannianum</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Attenuate	Attenuate	Entire
<i>S. leptopodium</i>	Tunggal	Opposite	Tidak Lengkap	Tidak Ada	Acuminate	Obtuse	Entire

Tabel 4.3 Lanjutan ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi herbarium

Nama Tumbuhan	Bangun Daun	Susunan Tulang Daun	Tipe petiole
<i>S. acumitatissimum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. acutangulum</i>	Elliptic	brochidodromous	Petiolate
<i>S. affasum</i>	Obovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. antisepticum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. aqueum</i>	Elliptic	brochidodromous	Sessile
<i>S. balgooyi</i>	Obovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. borneense</i>	Obovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. botaanense</i>	Oblong	brochidodromous	Sessile
<i>S. celebicum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. caudiferum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. nigricans</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. cinnamomeum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. claviflorum</i>	Ovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. contiguum</i>	Oblong	brochidodromous	Sessile
<i>S. cumini</i>	Obovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. cymosum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. densiflorum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. discophorum</i>	Lanceolate	brochidodromous	Sessile
<i>S. everettii</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. fastigiatum</i>	Obovate	brochidodromous	Petiolate
<i>S. galanthum</i>	Oblong	brochidodromous	Petiolate
<i>S. kinabaluense</i>	Lanceolate	brochidodromous	Petiolate

Tabel 4.3 Lanjutan ciri morfologi *Syzygium* pembanding koleksi herbarium

Nama Tumbuhan	Bangun Daun	Susunan Tulang Daun	Tipe petiole
<i>S. polyanthum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. linaetum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. litorale</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. rosenbluthii</i>	Lanceolate	pinnately veined	Petiolate
<i>S. panduriforme</i>	Lanceolate	pinnately veined	Petiolate
<i>S. phaeostictum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. polycephalum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Sessile
<i>S. polycephaloides</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Sessile
<i>S. pseudojambolana</i>	Ovate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. pycnanthum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. rosenbluthii</i>	Lanceolate	pinnately veined	Petiolate
<i>S. salignum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. samarangense</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. schumannianum</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate
<i>S. leptopodium</i>	Lanceolate	Brochidodromous	Petiolate



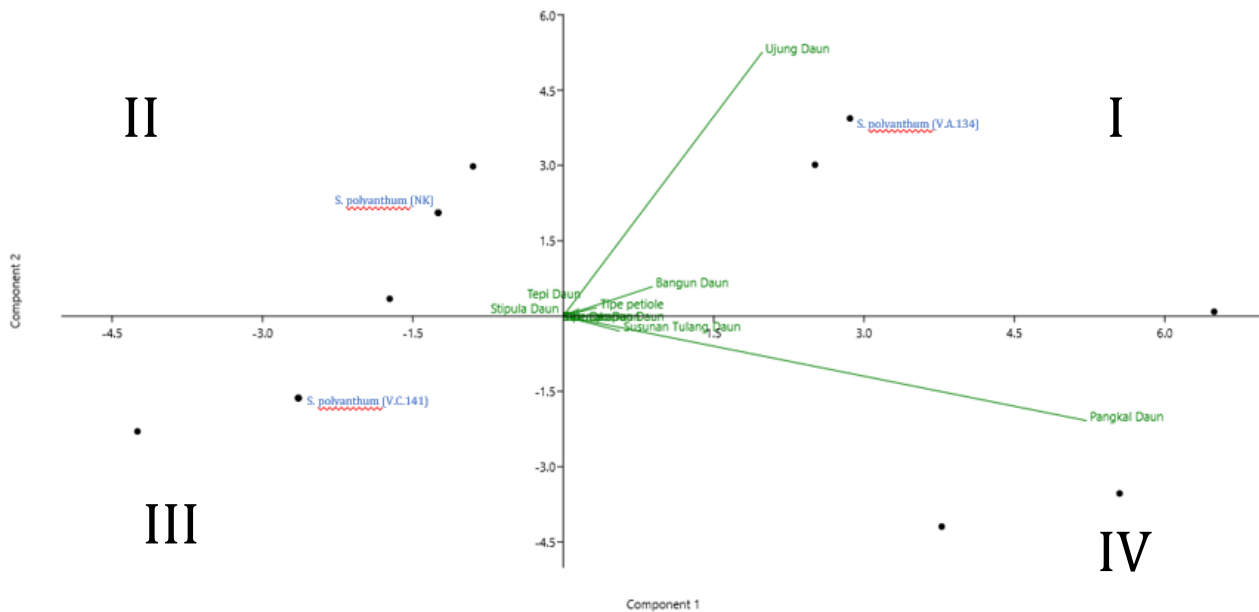
IV

I

III

II

Gambar 4.4 Pohon filogenetik berdasarkan karakter morfologi
Sumber : dokumentasi pribadi

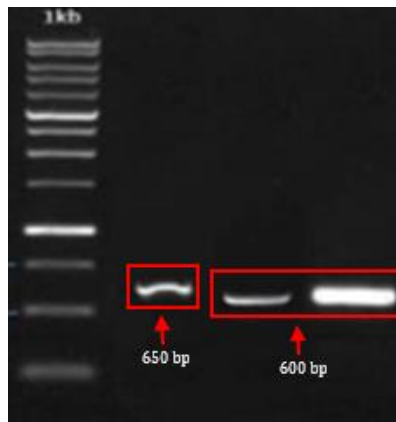


Gambar 4.5 Analisis hubungan kekerabatan menggunakan PCA

Sumber : dokumentasi pribadi

2. Data Molekuler

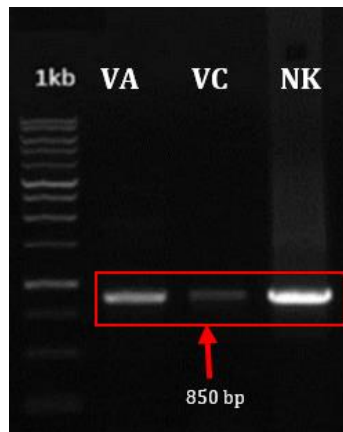
Ekstraksi DNA *S. polyanthum* dilakukan sesuai dengan protokol Kit Geneaid untuk nomor koleksi V.C.141 dan NK. Nomor koleksi V.A.134 dilakukan ekstraksi sesuai protokol Kit Tiangen. Verifikasi dilakukan menggunakan primer *rbcL* untuk mengetahui keberhasilan proses ekstraksi. Sesuai dengan gambar 4.6 diketahui bahwa dari ketiga sampel yang dilakukan ekstraksi terlihat adanya pita DNA yang muncul dengan panjang 650 bp untuk sampel kode VA dan 600 bp untuk kode VC dan NK.



Gambar 4.6. Verifikasi hasil ekstraksi menggunakan marker 1 kb (VA) Sampel V.A.134; (VC) Sampel V.C.141; (NK) Non-Koleksi

Sumber : dokumentasi pribadi

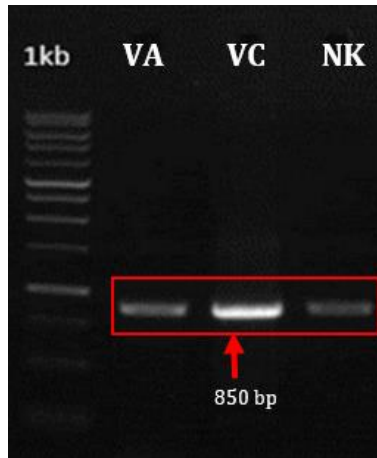
Amplifikasi sampel dilakukan menggunakan penanda molekuler ITS, hasil seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.7. Panjang pita DNA yang dihasilkan masing-masing sampel yaitu 850 bp. Hasil visualisasi yang dihasilkan memperlihatkan pita DNA yang tebal untuk kode VA dan NK, namun pada kode VC pita yang dihasilkan lebih tipis.



Gambar 4.7. Amplifikasi menggunakan penanda molekuler ITS menggunakan marker 1 kb (VA) Sampel V.A.134; (VC) Sampel V.C.141; (NK) Non-Koleksi
Sumber : dokumentasi pribadi

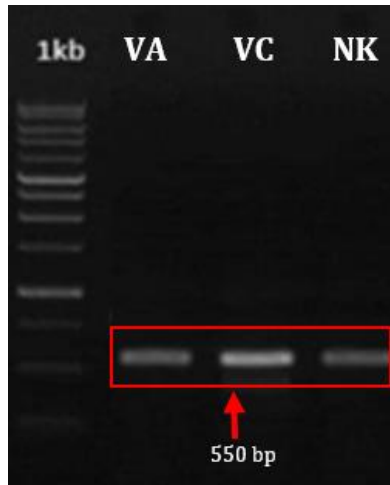
Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan penanda molekuler *matK*, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.8. Pita DNA yang dihasilkan dapat terlihat dengan

jelas untuk kode VC, sedangkan kode VA dan NK memiliki ketebalan lebih tipis. Panjang pita DNA yang dihasilkan berukuran 850 bp.



Gambar 4.8. Amplifikasi menggunakan penanda molekuler *matK* menggunakan marker 1 kb (VA) Sampel V.A.134; (VC) Sampel V.C.141; (NK) Non-Koleksi
Sumber : dokumentasi pribadi

Amplifikasi terakhir dilakukan dengan menggunakan penanda molekuler *psbA-trnH*. Hasil yang didapatkan seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.9. Pita yang dihasilkan pada ketiga sampel tidak terlalu tebal namun masih dapat terlihat. Masing-masing dari sampel tersebut memiliki ukuran panjang 550 bp.



Gambar 4.9. Amplifikasi menggunakan penanda molekuler *psbA-trnH* menggunakan marker 1 kb (VA) Sampel V.A.134; (VC) Sampel V.C.141; (NK) Non-Koleksi
Sumber : dokumentasi pribadi

Amplifikasi dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan penanda molekuler yang berbeda dengan tujuan untuk mencari tahu penanda molekuler yang paling cocok untuk digunakan pada sampel *S. polyanthum*. Sampel yang sudah diamplifikasi tersebut selanjutnya dilakukan sekuensing. Data hasil sekuensing berupa file yang berisi dua data masing-masing berisi sekuen *forward* dan *reverse*. Data yang ditampilkan yaitu berupa kromatogram atau grafik yang digambarkan dengan puncak. Kromatogram

yang ditampilkan memiliki warna yang beragam disesuaikan dengan jenis nukleotida. Warna garis yang terdapat pada kromatogram merupakan alat bantu visual yang dapat mempermudah saat analisis DNA. Garis-garis berwarna mewakili sinyal fluoresensi yang dihasilkan oleh masing-masing basa nitrogen. Warna biru menunjukkan nukleotida C, warna merah menunjukkan nukleotida T, warna hijau menunjukkan nukleotida A dan warna hitam menunjukkan nukleotida G.

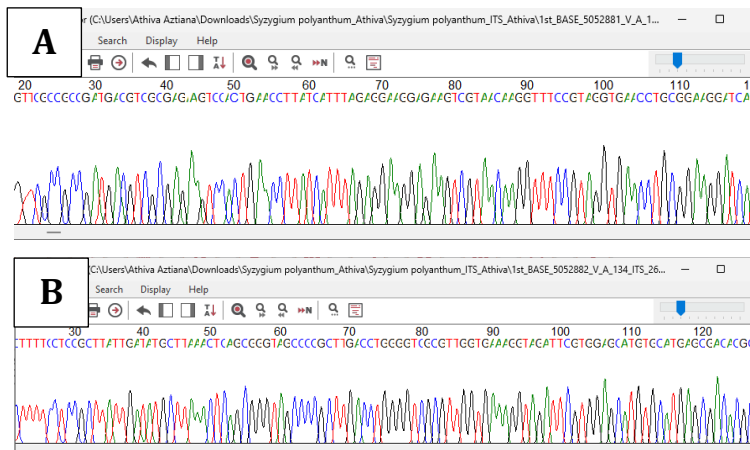
1) Analisis sekuensing penanda molekuler ITS

Kromatogram hasil sekuensing digambarkan dengan grafik yang berbentuk puncak yang memiliki warna. Warna yang diperlihatkan sesuai dengan nukleotidanya seperti pada gambar 4.10. Kromatogram hasil sekuensing dari sampel dengan kode V.A.134 menunjukkan bahwa setiap sekuen (*forward* dan *reverse*) yang dihasilkan memiliki panjang yang sama, yaitu sebesar 840 bp. Kualitas kromatogram yang dihasilkan cukup baik karena digambarkan dengan puncak yang tinggi dan tidak tumpang tindih. Kromatogram yang ditunjukkan oleh gambar 4.11. merupakan hasil sekuensing dari sampel V.C.141, hasilnya menunjukkan bahwa antara sekuen

forward dan *reverse* memiliki panjang yang berbeda. Sekuen *forward* memiliki panjang 850 bp dan sekuen *reverse* memiliki panjang 840 bp. Kualitas kromatogram yang dihasilkan lebih baik sekuen *reverse* karena lebih sedikit ditemukan grafik yang tumpang tindih. Kromatogram selanjutnya yaitu hasil sekuensing sampel dengan kode NK seperti ditunjukkan pada gambar 4.12. Hasil kromatogram menunjukkan bahwa panjang sekuen antara kedua sekuen sama yaitu 840 bp. Kualitas kromatogram yang dihasilkan dapat dikatakan paling baik diantara sampel dengan kode V.A.134 dan V.C.141, karena memiliki grafik dengan puncak yang tinggi dan tidak tumpang tindih antara puncak satu dengan yang lain.

Setiap kode sampel memiliki minimal sepuluh hasil BLAST yang diunduh berdasarkan *contig*. Hasil BLAST untuk *contig* dengan kode sampel V.A.134 ditunjukkan pada tabel 4.4, terdiri dari *S. sp*, *S. samarangense*, *S. aqueum*, *S. nervosum*, *C. xanthocarpa*, *L. lasioclada*, *S. paniculatum*. Hasil BLAST telah menunjukkan *Syzygium sp*. NTT muncul paling atas dengan *percent identity* 97.089 dengan *query cover* 92%. Dapat dilihat pada tabel 4.4 sebanyak tiga belas

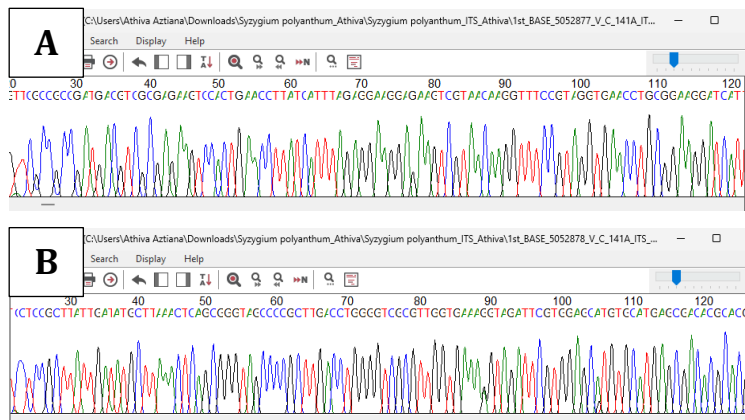
sekuen yang dipilih memiliki nilai *E value* 0.0 dan memiliki nilai *percent identity* diatas 90. Nilai *query cover* 5 sekuen diatas 90% dan 9 sekuen yang lain memiliki rentang nilai *query cover* diantara 82-89%.



Gambar 4.10. Kromatogram hasil sekuensing sampel kode V.A.134 dengan penanda ITS (A) Reverse (B) Forward

Tabel 4.5 ditunjukkan untuk sampel dengan kode V.C.141, hasil BLAST yang diperoleh yaitu terdiri dari *S. sp. NTT*, *S. alatum*, *S. samarangense*, *S. aqueum*, *M. subverticillaris*, *C. xanthocarpa*. Hasil BLAST yang muncul paling atas yaitu *Syzygium sp. NTT* dengan nilai *query cover* 92%, *percent identity* 96.689, dan *E value* 0.0. Tabel 4.5 menunjukkan setiap sekuen hasil BLAST

memiliki nilai *E value* 0.0. Sebanyak 8 dari sembilan sekuen memiliki nilai *percent identity* diatas 90. Nilai *query cover* 5 sekuen diatas 90% dan 5 sekuen yang lain memiliki rentang nilai *query cover* diantara 86-88%.



Gambar 4.11. Kromatogram hasil sekuensing sampel kode V.C.141 dengan penanda ITS (A) Reverse (B) Forward



Gambar 4.12. Kromatogram hasil sekuensing sampel kode NK dengan penanda ITS (A) Reverse (B) Forward

Tabel 4.6 ditunjukkan untuk sampel dengan kode NK, hasil BLAST yang diperoleh yaitu terdiri dari *S. alatum*, *S. samarangense*, *S. nervosum*, *U. candollei*, *S. aqueum*, *C. reitziana*, *S. nervosum*, *S. aqueum*. Spesies *S. alatum* berada di bagian paling atas saat proses BLAST, memiliki nilai *query cover* 94%, *percent identity* 96.287, dan *E value* 0.0. Sepuluh sekuen hasil BLAST tersebut memiliki nilai *E value* 0.0, dan *percent identity* diatas 90. Nilai *query cover* dari 5 sekuen diatas 90% dan untuk sekuen yang lain memiliki nilai *query cover* diantara 85-88%.

Ketiga tabel (tabel 4.4, 4.5, dan 4.6) yang menampilkan hasil BLAST dari kode V.A.134, V.C.141, dan NK menggunakan penanda molekuler ITS menghasilkan sekuen dengan nama spesies yang tidak jauh berbeda dan masih termasuk dalam genus *Syzygium* walaupun terdapat beberapa sekuen dari genus yang lain seperti *Campomanesia*, *Lenwebbia*, *Myrcia*, dan *Ugni*. Genus *Campomanesia*, *Lenwebbia*, *Myrcia*, dan *Ugni* muncul pada hasil BLAST tersebut dikarenakan genus tersebut termasuk dalam famili yang sama, yaitu *Myrtaceae*. Meskipun ITS bervariasi untuk membedakan spesies, namun tidak cukup bervariasi untuk memisahkan genus yang sangat berkerabat dekat dalam famili yang sama, khususnya jika terjadi pertukaran gen antar spesies atau genus yang berkerabat dekat secara cepat (Hikmatyar *et al.*, 2015). Oleh karena itu, sekuen ITS dari genus lain yang masih satu famili dapat menunjukkan kemiripan dengan *Syzygium*.

Tabel 4.4 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler ITS

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium sp. NTT</i>	92%	0.0	97.098	MN852321.1
2	<i>Syzygium samarangense</i>	88%	0.0	97.241	OR644131.1
3	<i>Syzygium samarangense</i>	89%	0.0	96.589	OP897499.1
4	<i>Syzygium aqueum</i>	87%	0.0	97.626	OR644618.1
5	<i>Syzygium aqueum</i>	86%	0.0	97.609	OR825352.1
7	<i>Syzygium nervosum</i>	86%	0.0	96.910	KP093040.1
8	<i>Syzygium nervosum</i>	86%	0.0	96.765	KP093041.1
9	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	100%	0.0	92.633	OK644075.1
10	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	100%	0.0	92.633	OK644072.1
11	<i>Lenwebbia lasioclada</i>	100%	0.0	92.503	KX522582.1
12	<i>Lenwebbia prominens</i>	100%	0.0	92.503	KX522583.1
13	<i>Syzygium paniculatum</i>	82%	0.0	97.341	KM064993.1
14	<i>Syzygium paniculatum</i>	82%	0.0	97.046	KM064956.1

Tabel 4.5 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler ITS

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium sp. NTT</i>	92%	0.0	96.689	MN852321.1
2	<i>Syzygium alatum</i>	94%	0.0	95.122	OM218686.1
3	<i>Syzygium samarangense</i>	87%	0.0	96.949	KC815990.1
4	<i>Syzygium samarangense</i>	87%	0.0	96.667	OR644131.1
5	<i>Syzygium aqueum</i>	86%	0.0	97.051	OR644618.1
6	<i>Syzygium aqueum</i>	88%	0.0	94.780	OR644132.1
7	<i>Myrcia subverticillaris</i>	99%	0.0	91.331	JN091244.1
8	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	100%	0.0	90.745	OK644075.1
9	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	100%	0.0	90.745	OK644072.1

Tabel 4.6 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler ITS

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium alatum</i>	94%	0.0	96.287	OM218686.1
2	<i>Syzygium samarangense</i>	87%	0.0	96.537	OR644131.1
3	<i>Syzygium samarangense</i>	87%	0.0	96.676	KC815990.1
4	<i>Syzygium nervosum</i>	86%	0.0	97.175	KP093040.1
5	<i>Ugni candollei</i>	100%	0.0	92.771	KX522586.1
6	<i>Ugni myricoides</i>	100%	0.0	92.771	KX522587.1
7	<i>Syzygium aqueum</i>	88%	0.0	95.885	OR644132.1
8	<i>Campomanesia reitziana</i>	100%	0.0	92.677	OK644066.1
9	<i>Syzygium nervosum</i>	85%	0.0	97.030	KP093041.1
10	<i>Syzygium aqueum</i>	86%	0.0	96.774	OR644618.1

Komposisi nukleotida menggunakan MEGA dapat dilihat seperti tabel 4.7. Hasil analisis komposisi nukleotida antara sampel dengan kode V.A.134 dengan NK memiliki perbedaan, selisih komposisi dari basa ATGC tersebut berkisar antara 0,82-1,22 dan selisih panjang sekuennya yaitu 5 bp. Kode V.C.141 dengan NK juga memiliki perbedaan selisih komposisi nukleotidanya, yaitu berkisar antara 0,2-1,29 dan selisih panjang sekuennya yaitu 3 bp. Selisih komposisi nukleotida yang besar antar dua sekuen DNA dari organisme berbeda menunjukkan bahwa kedua organisme tersebut memiliki jarak kekerabatan evolusi yang jauh. Semakin kecil perbedaannya, semakin dekat kekerabatan evolusinya.

Tabel 4.7 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda ITS

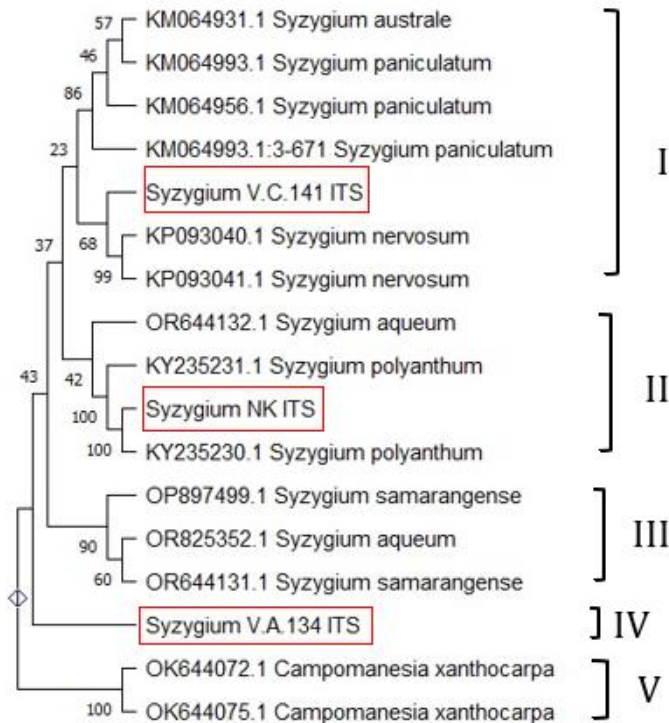
Spesies	T(U)	C	A	G	Total
<i>S. polyanthum</i> (V.A.134_ITS)	20,83	27,04	23,87	28,26	821
<i>S. polyanthum</i> (V.C.141_ITS)	20,90	27,10	22,84	29,16	823
<i>S. polyanthum</i> (NK_ITS)	19,61	28,21	23,00	29,18	826
OP897499.1 <i>S. samarangense</i>	20,14	27,78	23,89	28,19	720
OR825352.1	20,93	28,57	22,63	27,86	707

Species	T(U)	C	A	G	Total
<i>S. aqueum</i>					
OK644072.1	20,78	27,75	22,86	28,61	818
<i>C. xanthocarpa</i>					
OK644075.1	20,78	27,75	22,98	28,48	818
<i>C. xanthocarpa</i>					
KM064993.1	21,04	28,81	21,94	28,21	670
<i>S. paniculatum</i>					
KM064956.1	20,81	28,74	22,16	28,29	668
<i>S. paniculatum</i>					
MW854218.1	21,08	28,53	21,71	28,68	631
<i>S. polyanthum</i>					
KY235230.1	21,94	29,68	19,35	29,03	310
<i>S. polyanthum</i>					
KY235231.1	21,94	29,68	19,35	29,03	310
<i>S. polyanthum</i>					
OM218686.1	21,15	27,31	24,23	27,31	780
<i>S. alatum</i>					
KC815990.1	20,39	28,16	23,02	28,43	721
<i>S. samarangense</i>					
OR644618.1	20,79	28,37	22,75	28,09	712
<i>S. aqueum</i>					
OM218686.1	21,15	27,31	24,23	27,31	780
<i>S. alatum</i>					
OR644131.1	20,25	28,07	23,60	28,07	716
<i>S. samarangense</i>					
KC815990.1	20,39	28,16	23,02	28,43	721
<i>S. samarangense</i>					
KP093040.1	21,10	27,76	22,52	28,61	706
<i>S. nervosum</i>					
OR644132.1	19,44	28,47	23,06	29,03	720
<i>S. aqueum</i>					
OR644618.1	20,79	28,37	22,75	28,09	712
<i>S. aqueum</i>					
KP093041.1	21,25	27,62	22,52	28,61	706
<i>S. nervosum</i>					

Analisis jarak genetik dapat memperkuat hubungan kekerabatan evolusioner antara spesies yang satu dengan yang lain. Antara sampel kode V.A.134 dan NK memiliki nilai jarak genetik sebesar 0,2316. Sampel kode V.C.141 dan NK memiliki nilai jarak genetik sebesar 0,2355. Jarak genetik yang baik antar sampel yaitu sebesar 0. Karena, semakin kecil nilai jarak genetik antar organisme maka semakin dekat hubungan evolusioner antara keduanya.

Hasil *alignment* dikonstruksi dalam bentuk pohon filogenetik menggunakan metode statistik *Neighbor Joining* (NJ) dengan model substitusi Tamura-3-parameter bootstrap 1000 kali. Hasil pohon filogenetik disajikan seperti gambar 4.13. Hasil konstruksi pohon filogenetik memperlihatkan terbentuknya V klada. Klada merupakan cabang yang terdapat pada pohon filogenetik yang mencakup nenek moyang dan semua keturunannya, memberikan gambaran yang akurat tentang bagaimana spesies berkerabat melalui sejarah evolusi yang terbentuk. Kalada I terdiri dari *S. australe*, *S. paniculatum*, *Syzygium*. V.C.141, dan *S.*

nervosum. Klada II terdiri dari *S. aqueum*, *S. polyanthum*, *Syzygium* NK. Klada III terdiri dari *S. samarangense* dan *S. aqueum*. Klada IV terdiri dari *Syzygium* V.A.134. Klada V terdiri dari *C. xanthocarpa* serta dijadikan sebagai *outgroup*.



Gambar 4.13. Pohon filogenetik menggunakan metode Neighbor Joining model substitusi Tamura-3-parameter bootstrap 1000 kali

Tabel 4.8 Jarak genetik dengan penanda molekuler ITS

No	Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	<i>Syzygium</i> V.C.141 ITS																	
2	<i>Syzygium</i> V.A.134 ITS	0,0403																
3	<i>Syzygium</i> NK ITS	0,2355	0,2316															
4	KY235231.1 <i>S. polyanthum</i>	0,0404	0,0543	0,0098														
5	KY235230.1 <i>S. polyanthum</i>	0,0404	0,0543	0,0098	0													
6	KM064993.1:3-671 <i>S. paniculatum</i>	0,0182	0,0229	0,1933	0,0441	0,0441												
7	OP897499.1 <i>S. samarangense</i>	0,0289	0,0172	0,2230	0,0372	0,0372	0,0107											
8	OR825352.1 <i>S. aqueum</i>	0,0305	0,0187	0,2197	0,0439	0,0439	0,0152	0,0014										
9	OR644131.1 <i>S. samarangense</i>	0,0275	0,0158	0,2177	0,0371	0,0371	0,0122	0,0014	0,0000									
10	KP093040.1 <i>S. nervosum</i>	0,0160	0,0279	0,2341	0,0336	0,0336	0,0154	0,0162	0,0178	0,0148								
11	OR644132.1 <i>S. aqueum</i>	0,0410	0,0305	0,2253	0,0409	0,0409	0,0217	0,0249	0,0235	0,0220	0,0285							
12	KP093041.1 <i>S. nervosum</i>	0,0189	0,0309	0,2379	0,0370	0,0370	0,0185	0,0192	0,0208	0,0178	0,0014	0,0316						
13	KM064931.1 <i>S. australe</i>	0,0225	0,0240	0,1990	0,0475	0,0475	0,0000	0,0120	0,0164	0,0135	0,0168	0,0229	0,0199					
14	KM064993.1 <i>S. paniculatum</i>	0,0197	0,0228	0,1946	0,0441	0,0441	0,0000	0,0107	0,0152	0,0122	0,0154	0,0217	0,0185	0,0000				
15	KM064956.1 <i>S. paniculatum</i>	0,0198	0,0229	0,1933	0,0442	0,0442	0,0000	0,0107	0,0152	0,0122	0,0154	0,0217	0,0186	0,0000	0,0000			
16	OK644072.1 <i>C. xanthocarpa</i>	0,0880	0,0783	0,2819	0,1156	0,1156	0,0760	0,0747	0,0799	0,0750	0,0761	0,0814	0,0794	0,0762	0,0758	0,0743		
17	OK644075.1 <i>C. xanthocarpa</i>	0,0880	0,0783	0,2819	0,1156	0,1156	0,0760	0,0747	0,0799	0,0750	0,0761	0,0814	0,0794	0,0762	0,0758	0,0743	0,0042	

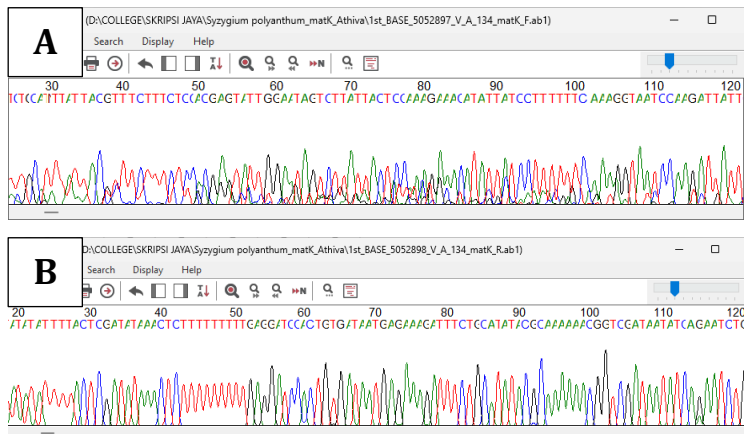
2) Analisis sekuensing penanda molekuler *matK*

Kromatogram pada sampel dengan kode V.A.134 menggunakan penanda molekuler *matK* seperti yang ditampilkan pada gambar 4.14 menunjukkan hasil yang kurang baik pada sekuen *forward*. Dapat dilihat bahwa pada puncak yang terbentuk ditemukan banyak *peaks* yang tumpang tindih antara satu dengan yang lain. Kedua sekuen tersebut memiliki perbedaan panjang, sekuen *forward* memiliki panjang 840 bp sedangkan sekuen *reverse* 850 bp. Kromatogram yang disajikan pada gambar 4.15 memperlihatkan hasil dari sampel dengan kode V.C.141.

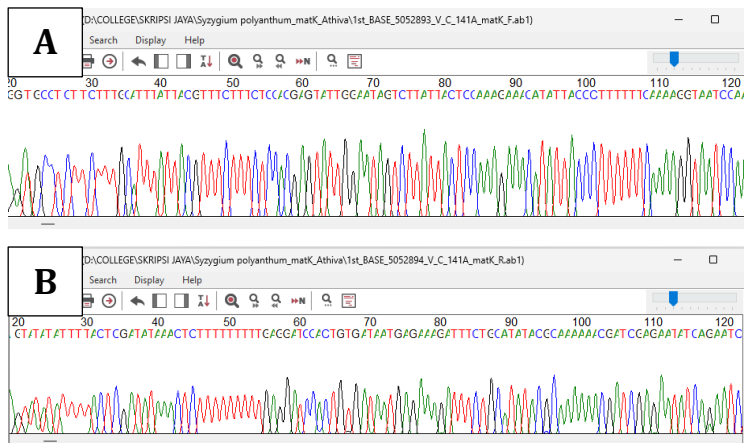
Dilihat dari puncak yang terbentuk, hasil kromatogram antara kedua sekuen cukup baik, karena tidak saling tumpang tindih, namun puncak yang dihasilkan kurang tinggi dan terdapat beberapa yang mengapung. Secara umum, tidak ada batas tinggi yang ditetapkan untuk *peaks* pada kromatogram, namun dalam hal ini ukuran *peaks* yang kurang tinggi menunjukkan *peaks* tersebut terlalu rendah untuk dapat diukur secara akurat. Sedangkan puncak yang mengapung, merujuk pada puncak yang tidak berada sepenuhnya pada garis dasar.

Panjang dari sekuen yang dihasilkan antara keduanya sama yaitu 860 bp. Gambar 4.16 memperlihatkan hasil kromatogram sampel dengan kode NK. Puncak kromatogram yang terbentuk memperlihatkan *peaks* yang cukup baik antara kedua sekuen, karena memiliki puncak yang saling terpisah antara satu dengan yang lainnya. Panjang yang dimiliki oleh kedua sekuen tersebut berbeda. Sekuen *forward* memiliki panjang 850 bp, sedangkan sekuen *reverse* 860 bp. Perbedaan panjang antara sekuen *forward* dan sekuen *reverse* disebabkan oleh perbedaan lokasi penempelan primer dan reaksi sekuensing tidak 100% efisien di kedua arah dan proses pemotongan bagian sekuen yang kualitasnya kurang baik.

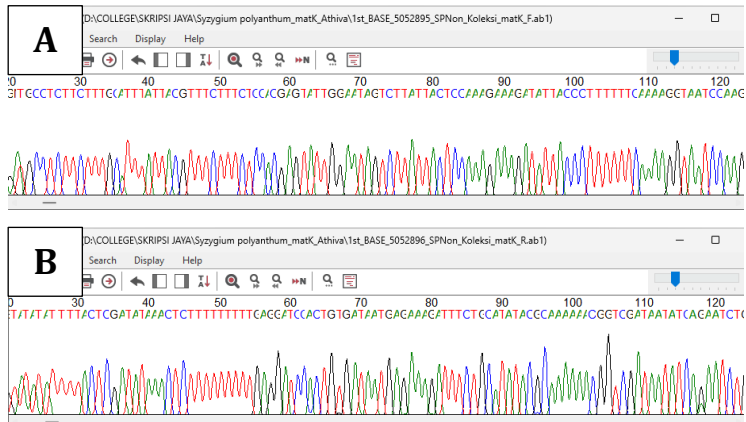
Contig dari data sekuen hasil sekuensing kemudian di BLAST. Hasil BLAST diambil minimal sepuluh dari data yang muncul teratas. Tabel 4.9 merupakan hasil BLAST dari kode sampel V.A.134. Sampel yang muncul paling atas yaitu *S. australe* dengan nilai *percent identity* 99.881, *query cover* 100%, dan nilai *E value* 0.0. Sekuen hasil BLAST yang dipilih tersebut sama rata memiliki *E value* 0.0, *percent identity* 99 dan *query cover* 100%.



Gambar 4.14. Kromatogram hasil sekuensing sampel kode V.A.134 dengan penanda matK (A) Reverse (B) Forward



Gambar 4.15. Kromatogram hasil sekuensing sampel kode V.C.141 dengan penanda matK (A) Reverse (B) Forward



Tabel 4.10 memperlihatkan hasil BLAST dari sampel dengan kode V.C.141. Sampel yang paling atas dari hasil BLAST tersebut yaitu *S. nervosum*, memiliki nilai *percent identity* 99.522, *query cover* 100%, dan *E value* 0.0. Sebanyak dua belas sekuen yang dipilih memiliki nilai *E value* 0.0 dan *query cover* 100%. Sebanyak 10 dari dua belas sekuen memiliki nilai *percernt identity* 99 dan dua yang lainnya 98.

Tabel 4.11 memperlihatkan hasil BLAST dari sampel dengan kode NK. Sampel yang muncul paling atas setelah dilakukan BLAST yaitu *S. polyanthum*,

dengan nilai *percent identity* 100.000, *query cover* 100%, dan *E value* 0.0. sebanyak 10 dari sebelas sekuen yang dipilih memiliki nilai *E value* 0.0, *percent identity* 99, dan *query cover* 100%.

Komposisi nukleotida yang dihasilkan menggunakan perangkat MEGA pada penanda molekuler *matK* dapat dilihat pada tabel 4.12. Hasil analisis antara sampel kode V.A.134 dan NK memiliki perbedaan selisih basa ATGC nya. Selisih antara basa dari kedua sampel tersebut yaitu berkisar antara 0,05-0,23. Panjang sekuen antara keduanya juga memiliki selisih sebesar 8 bp. Hasil analisis antara sampel dengan kode V.C.141 dan NK terdapat perbedaan. Basa ATGC antara kedua sampel memiliki selisih berkisar antara 0,4-0,31. Panjang sekuen antara kedua sampel tersebut terdapat perbedaan 9 bp. Selisih panjang sampel kode V.A.134 dan NK lebih pendek dibandingkan dengan sampel kode V.C.141 dan NK, hal ini dapat ditarik kesimpulan bahwa sampel V.A.134 dan NK memiliki hubungan kekerabatan lebih dekat secara genetik.

Tabel 4.9 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler *matK*

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.881	AF368221.2
2	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.881	NC_082025.1
3	<i>Syzygium fibrosum</i>	100%	0.0	99.880	DQ088577.1
4	<i>Syzygium angophoroides</i>	100%	0.0	99.642	DQ088557.1
5	<i>Syzygium oleosum</i>	100%	0.0	99.642	DQ088597.1
6	<i>Syzygium paniculatum</i>	100%	0.0	99.522	DQ088598.1
7	<i>Syzygium paniculatum</i>	100%	0.0	99.760	KM065271.1
8	<i>Syzygium sandwicense</i>	100%	0.0	99.522	DQ088606.1
9	<i>Syzygium aqueum</i>	100%	0.0	99.403	DQ088559.1
10	<i>Syzygium samarangense</i>	100%	0.0	99.403	DQ088605.1
11	<i>Syzygium samarangense</i>	100%	0.0	99.403	AY525141.1

Tabel 4.10 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler matK

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium nervosum</i>	100%	0.0	99.522	NC_053907.1
2	<i>Syzygium cinereum</i>	100%	0.0	99.522	PP145305.1
3	<i>Syzygium pachycladum</i>	100%	0.0	99.402	NC_084389.1
4	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.282	AF368221.2
5	<i>Syzygium samarangense</i>	100%	0.0	99.282	DQ088605.1
6	<i>Syzygium samarangense</i>	100%	0.0	99.282	AY525141.1
7	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.282	NC_082025.1
8	<i>Syzygium jambos</i>	100%	0.0	99.163	NC_052728.1
9	<i>Syzygium cumini</i>	100%	0.0	99.163	NC_053327.1
10	<i>Syzygium cumini</i>	100%	0.0	99.043	AY525140.1
11	<i>Syzygium aromaticum</i>	100%	0.0	98.456	ON920513.1
12	<i>Syzygium aromaticum</i>	100%	0.0	98.456	NC_047249.1

Tabel 4.11 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler matK

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium polyanthum</i>	100%	0.0	100.000	NC_072979.1
2	<i>Syzygium grande</i>	100%	0.0	99.644	PP893287.1
3	<i>Syzygium sayeri</i>	100%	0.0	99.644	NC_084392.1
4	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.526	AF368221.2
5	<i>Syzygium cinereum</i>	100%	0.0	99.526	NC_086715.1
6	<i>Syzygium aqueum</i>	100%	0.0	99.526	DQ088559.1
7	<i>Syzygium samarangens</i>	100%	0.0	99.526	AY525141.1
8	<i>Syzygium australe</i>	100%	0.0	99.526	NC_082025.1
9	<i>Syzygium cumini</i>	100%	0.0	99.288	DQ088575.1
10	<i>Syzygium cumini</i>	100%	0.0	99.288	AY525140.1
11	<i>Syzygium malaccense</i>	100%	0.0	99.170	DQ088590.1

Tabel 4.12 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda matK

Spesies	T(U)	C	A	G	Total
Syzygium V.A.134	36,80	18,16	29,87	15,17	837
Syzygium V.C.141	36,72	18,30	29,90	15,07	836
Syzygium NK	36,57	18,11	29,94	15,38	845
NC 053907.1 <i>S. nervosum</i>	30,14	14,95	36,72	18,18	836
AF368221.2 <i>S. australe</i>	36,84	18,18	30,02	14,95	836
NC 053327.1 <i>S. cumini</i>	29,90	15,07	36,48	18,54	836
NC 052728.1 <i>S. jambos</i>	29,90	14,95	36,48	18,66	836
LC737237.1 <i>S. polyanthum</i>	37,19	18,22	29,63	14,96	675
NC 084389.1 <i>S. pachycladum</i>	30,13	14,95	36,65	18,27	843
PP975770.1 <i>S. syzygioides</i>	30,13	14,95	36,65	18,27	843
PP893287.1 <i>S. grande</i>	30,01	14,83	36,65	18,51	843
NC 084392.1 <i>S. sayeri</i>	30,01	14,95	36,77	18,27	843
DQ088605.1 <i>S. samarangense</i>	36,77	18,39	30,13	14,71	843
NC 082025.1 <i>S. australe</i>	30,01	14,95	36,89	18,15	843
AY525141.1 <i>S. samarangense</i>	36,77	18,39	30,13	14,71	843
NC 086715.1 <i>S. cinereum</i>	30,01	14,83	36,54	18,62	843
PP145305.1 <i>S. cinereum</i>	30,13	15,07	36,54	18,27	843
NC 052867.1	30,01	14,83	36,65	18,51	843

Tabel 4.12 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda *matK*

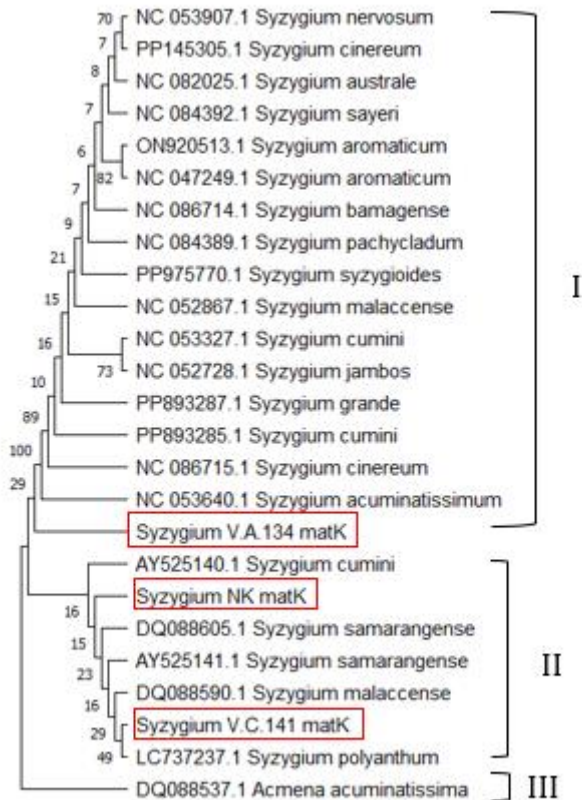
S. malaccense					
AY525140.1	36,65	18,39	30,01	14,95	843
S. cumini					
PP893285.1	30,01	14,95	36,65	18,39	843
S. cumini					
DQ088590.1	36,34	18,17	30,40	15,08	842
S. malaccense					
NC 053640.1	29,89	15,18	36,65	18,27	843
S. acuminatissimum					
ON920513.1	30,04	15,19	36,63	18,14	849
S. aromaticum					
NC 047249.1	30,04	15,19	36,63	18,14	849
S. aromaticum					
DQ088537.1	36,56	18,28	29,87	15,29	837
A. acuminatissima					

Tabel 4.13 menunjukkan hasil analisis jarak genetik antara sampel dengan kode V.A.134 dan NK yaitu sebesar 0,0060, sedangkan antara sampel dengan kode V.C.141 dan NK yaitu sebesar 0,0072. Jika dilihat dari analisis jarak genetik menggunakan penanda molekuler *matK* pada tabel 4.13, hubungan evolusioner sampel dengan kode V.A.134 dan NK lebih dekat dibandingkan dengan sampel dengan kode V.C.141 dan NK. Semakin kecil nilai jarak genetiknya maka hubungan evolusionernya semakin dekat.

Tabel 4.13 Jarak genetik dengan penanda molekuler matK

No	Spesies	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
1	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134_matK)																									
2	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141_matK)	0,0085																								
3	<i>S. polyanthum</i> (NK_matK)	0,0060	0,0072																							
4	LC737237.1 <i>S. polyanthum</i>	0,0060	0,0045	0,0045																						
5	NC 053907.1 <i>S. nervosum</i>	1,6215	1,6731	1,6313	1,7612																					
6	NC 053327.1 <i>S. cumini</i>	1,6160	1,6674	1,6258	1,7535	0,0060																				
7	NC 052728.1 <i>S. jambos</i>	1,6270	1,6792	1,6370	1,7447	0,0060	0,0024																			
8	NC 084389.1 <i>S. pachycladum</i>	1,5955	1,6455	1,6050	1,7343	0,0036	0,0048	0,0048																		
9	PP975770.1 <i>S. syzygioides</i>	1,5955	1,6455	1,6050	1,7227	0,0036	0,0048	0,0048	0,0024																	
10	PP893287.1 <i>S. grande</i>	1,5929	1,6426	1,6024	1,7184	0,0036	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024																
11	NC 084392.1 <i>S. sayeri</i>	1,6062	1,6569	1,6159	1,7386	0,0036	0,0048	0,0048	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024														
12	DQ088605.1 <i>S. samarangense</i>	0,0060	0,0072	0,0048	0,0045	1,6483	1,6426	1,6540	1,6214	1,6214	1,6186	1,6325														
13	NC 082025.1 <i>S. australe</i>	1,6281	1,6397	1,5997	1,7101	0,0048	0,0060	0,0060	0,0036	0,0036	0,0036	0,0036	1,6159													
14	NC 086714.1 <i>S. bamagense</i>	1,6036	1,6540	1,6132	1,7343	0,0048	0,0060	0,0060	0,0036	0,0036	0,0036	0,0036	1,6297	0,0048												
15	AY525141.1 <i>S. samarangense</i>	0,0060	0,0072	0,0048	0,0045	1,6483	1,6426	1,6540	1,6214	1,6214	1,6186	1,6325	0	1,6159	1,6297											
16	NC 086715.1 <i>S. cinereum</i>	1,5903	1,6398	1,5998	1,7184	0,0048	0,0036	0,0036	0,0036	0,0036	0,0012	0,0036	1,6159	0,0048	0,0048	1,6159										
17	PP145305.1 <i>S. cinereum</i>	1,6226	1,6746	1,6325	1,7639	0,0024	0,0060	0,0060	0,0036	0,0036	0,0036	0,0036	1,6495	0,0048	0,0048	1,6495	0,0048									
18	NC 052867.1 <i>S. malaccense</i>	1,5958	1,6454	1,6053	1,7216	0,0060	0,0072	0,0072	0,0048	0,0048	0,0048	0,0048	1,6215	0,0060	0,0060	1,6215	0,0060	0,0060								
19	AY525140.1 <i>S. cumini</i>	0,0084	0,0097	0,0072	0,0045	1,6313	1,6258	1,6370	1,6050	1,6050	1,6024	1,6159	0,0072	1,5997	1,6132	0,0072	1,5998	1,6325	1,6053							
20	PP893285.1 <i>S. cumini</i>	1,6036	1,6540	1,6132	1,7386	0,0072	0,0060	0,0060	0,0060	0,0060	0,0036	0,0060	1,6297	0,0072	0,0072	1,6297	0,0024	0,0072	0,0084	1,6132						
21	DQ088590.1 <i>S. malaccense</i>	0,0084	0,0097	0,0072	0,0075	1,6610	1,6554	1,6670	1,6337	1,6337	1,6309	1,6450	0,0072	1,6281	1,6422	0,0072	1,6281	1,6624	1,6337	0,0096	1,6422					
22	NC 053640.1 <i>S. acuminatissimum</i>	1,5379	1,5832	1,5466	1,6643	0,0085	0,0097	0,0097	0,0072	0,0072	0,0072	0,0072	1,5613	0,0085	0,0085	1,5613	0,0085	0,0084	0,0097	1,5466	0,0109	1,5549				
23	ON920513.1 <i>S. aromaticum</i>	1,6081	1,6592	1,6179	1,7292	0,0060	0,0072	0,0072	0,0048	0,0048	0,0048	0,0048	1,6346	0,0060	0,0060	1,6346	0,0060	0,0060	0,0072	1,6179	0,0084	1,6473	0,0097			
24	NC 047249.1 <i>S. aromaticum</i>	1,6081	1,6592	1,6179	1,7292	0,0060	0,0072	0,0072	0,0048	0,0048	0,0048	0,0048	1,6346	0,0060	0,0060	1,6346	0,0060	0,0060	0,0072	1,6179	0,0084	1,6473	0,0097	0,0000		
25	DQ088537.1 <i>A. acuminatissima</i>	0,0097	0,0110	0,0085	0,0075	1,6302	1,6246	1,6358	1,6120	1,6037	1,6011	1,6147	0,0085	1,5985	1,6120	0,0085	1,5985	1,6313	1,6041	0,0097	1,6120	0,0109	1,5454	1,6166	1,6166	

Hasil konstruksi pohon filogenetik menggunakan metode Neighbor Joining (NJ) dengan model substitusi Tamura-3-parameter Gamma bootstrap 1000 disajikan pada gambar 4.17. Dapat dilihat pohon filogenetik tersebut membentuk III klada. Klada I terbentuk dari sampel *S. nervosum*, *S. cinereum*, *S. australe*, *S. sayeri*, *S. aromaticum*, *S. bamagense*, *S. pachycladum*, *S. syzygoides*, *S. malaccense*, *S. cumini*, *S. jambos*, *S. grande*, *S. cumini*, *S. acuminatissimum*, dan *Syzygium* V.A.134 *matK*. Klada II terbentuk dari sampel *S. cumini*, *Syzygium* NK *matK*, *S. samarangense*, *S. malacense*, *Syzygium* V.C.141 *matK*, dan *S. polyanthum*. Klada III termasuk outgrup terbentuk dari sampel *A. acuminatissima*.



Gambar 4.17. Pohon filogenetik menggunakan metode Neighbor Joining model substitusi Tamura-3-parameter Gamma bootstrap 1000 kali

3) Analisis sekuensing penanda molekuler *psbA-trnH*

Hasil kromatogram sampel dengan kode V.A.134 menggunakan penanda molekuler *psbA-trnH* disajikan

dalam gambar 4.18. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa kromatogram yang terbentuk memiliki kualitas baik, namun dapat dilihat pada sekuen *reverse* (B) masih ditemukan puncak yang tumpang tindih antara satu dengan yang lain. Kedua sekuen tersebut memiliki panjang yang berbeda, sekuen *forward* memiliki panjang 560 bp, sedangkan *reverse* 600 bp. Hasil kromatogram sampel dengan kode V.C.141 disajikan pada gambar 4.19. Hasil menunjukkan bahwa kualitas kromatogram tersebut baik pada kedua sekuen.

Sebuah kromatogram dikatakan berkualitas baik apabila puncak yang dihasilkan dapat terbaca dengan baik, terpisah secara jelas satu sama lain. Puncak yang tinggi dan ramping menunjukkan bahwa komponen sampel dapat terdeteksi secara maksimal. Puncak yang terbentuk terpisah antara satu dengan yang lain, namun terdapat beberapa yang mengapung, artinya puncak yang terbentuk tidak berada sepenuhnya pada garis dasar. Panjang antara kedua sekuen tersebut untuk *forward* 560 bp dan *reverse* 570 bp.

Gambar 4.20 menyajikan kromatogram dengan kode NK. Hasil yang ditunjukkan pada gambar tersebut

A

D:\COLLEGE\SKRIPSI JAVA\Syzgyium polyanthum_psbA-trnH_Athiva\1st_BASE_5052913_V_A_134_psbA-trnH_Fab1)

Search Display Help

GAGTCTCTCTKTAATGGGTGAFGCTTGCTTGAETATTAAGTGTACGCCGAGTTTTTGATTGGCAFCGFAAGTAAAGGAGCCATATCCCAACACTCTTATAAT

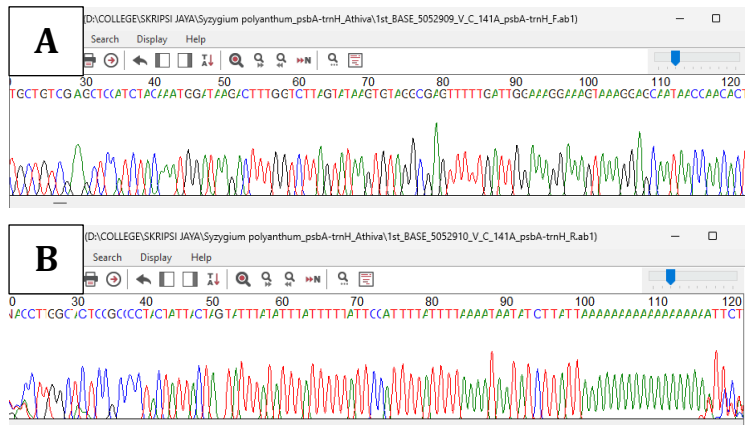
B

(D:\COLLEGE\SKRIPSI JAVA\Syzgyium polyanthum_psbA-trnH_Athiva\1st_BASE_5052914_V_A_134_psbA-trnH_Rab1)

Search Display Help

GNMCCCCCGC CTTGTCCTCCGCCTTACTTTACTAGTAGTATTTATTTTATTTTATTCCTTTTATTAAPAAAAFFFFFPAAPFTTCATATGAGAAA

145



Hasil BLAST sampel dengan kode V.A.134 diambil sebanyak sepuluh sekuen seperti yang disajikan pada tabel 4.14. Sampel yang muncul paling atas yaitu *S. effusum*, memiliki nilai *percent identity* 94,659, *query cover* 98%, dan *E value* 0.0. Sepuluh sekuen tersebut memiliki nilai *E value* 0,0. sebanyak 9 dari sepuluh sekuen memiliki nilai *percent identity* diatas 90, *S. aromaticum* (LC435393.1) memiliki nilai *percent identity* 89.730. Sebanyak 3 sekuen (NC_084386.1, LC435393.1, MH101986.1) memiliki nilai *query cover* diatas 90%. Sebanyak 4 sekuen (PP975770.1, OR983270.1, KJ426954.1, MN295186.1) diatas 80% dan 3 sekuen lain (OR983271.1, KR533006.1, KR533008.1) memiliki nilai diatas 70%.

Sekuen hasil BLAST sampel dengan kode V.C.141 diambil sebanyak sebelas sekuen seperti yang disajikan pada tabel 4.15. Urutan yang paling atas yaitu *S. effusum* dengan nilai *percent identity* 94.659, *query cover* 98%, dan *E value* 0.0. Sebanyak 10 sekuen memiliki nilai *percent identity* diatas 90, untuk sampel *S. aromaticum* (LC435393.1) memiliki nilai 89.730. Nilai *query cover* dari 3 sekuen yaitu diatas 90%, 6 sekuen diatas 80%, dan 2 sekuen diatas 70%.

Tabel 4.16. merupakan sekuen hasil BLAST sampel dengan kode NK. Hasil menunjukkan untuk sampel yang muncul paling atas yaitu *S. polyanthum* dengan nilai *percent identity* 94.737, *query cover* 63%, dan *E value* 0.0. Nilai *E value* yang ditampilkan pada sekuen hasil BLAST tersebut terbilang sangat kecil yaitu 0. Nilai *E value* yang sangat kecil tersebut menjadikan indikator kecocokan yang sangat kuat dan signifikan secara statistik. Nilai *percent identity* yang dimiliki dari 7 sekuen yaitu diatas 90, dan 3 sekuen diatas 80. Nilai *query cover* dari 5 sekuen yaitu diatas 60%, dan 5 sekuen lain yaitu diatas 50%.

Komposisi nukleotida dengan penanda *psbA-trnH* disajikan pada tabel 4.17. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan basa ATGC pada sampel dengan kode V.C.134 dan NK. Perbedaan tersebut berkisar antara 0,15-2,01. Panjang sekuen antara keduanya memiliki selisih yaitu 27 bp. Komposisi sekuen nukleotida sampel dengan kode V.C.141 dan NK berkisar antara 0,15-2,01, dan memiliki selisih panjang sekuen 27 bp. Nilai tersebut sama dengan V.A.134 dan NK. Hal ini dikarenakan antara sampel dengan kode V.A.134 dan V.C.141

memiliki komposisi nukleotida dan panjang sekuens yang sama.

Jarak genetik seperti yang disajikan pada tabel 4.18 diperlukan untuk memperkuat hubungan evolusioner antara organisme satu dengan yang lain. Tabel 4.18 merupakan jarak genetik dengan penanda molekuler *psbA-trnH*. Nilai jarak genetik antara sampel dengan kode V.A.134 dan NK serta sampel dengan kode V.C.141 dan NK yaitu 0,0819. Nilai jarak genetik ini sama, dikarenakan antara sampel dengan kode V.A.134 dan V.C.141 memiliki nilai jarak genetik 0.

Hasil konstruksi pohon filogenetik menggunakan penanda molekuler *psbA-trnH* dengan metode *Neighbor Joining* (NJ) model substitusi Tamura-3-parameter Gamma bootstrap 1000 kali disajikan dalam gambar 4.21. Pohon filogenetik tersebut menghasilkan III klada. Klada I terbentuk dari sampel *S. polyanthum*, *S. syzygoides*, *S. malaccense*, *Syzygium* NK *psbA-trnH*, *S. aromaticum*, *S. cumini*, *Syzygium* V.C141 *psbA-trnH*, dan *Syzygium* V.A.134 *psbA-trnH*. Klada II terbentuk dari *S. polyanthum*. Klada III terbentuk dari *A. smithii*

Tabel 4.14 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.A.134 dengan penanda molekuler *psbA-trnH*

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium effusum</i>	98%	0.0	94.659	NC_084386.1
2	<i>Syzygium syzygioides</i>	88%	0.0	93.712	PP975770.1
3	<i>Syzygium cumini</i>	81%	0.0	96.197	OR983270.1
4	<i>Syzygium cumini</i>	79%	0.0	96.591	OR983271.1
5	<i>Syzygium malaccense</i>	87%	0.0	93.776	KJ426954.1
6	<i>Syzygium malaccense</i>	80%	0.0	95.692	MN295186.1
7	<i>Syzygium aromaticum</i>	98%	0.0	89.730	LC435393.1
8	<i>Syzygium aromaticum</i>	93%	0.0	90.875	MH101986.1
9	<i>Syzygium balsameum</i>	78%	0.0	95.139	KR533006.1
10	<i>Syzygium balsameum</i>	78%	0.0	94.907	KR533008.1

Tabel 4.15 Sekuen hasil BLAST kode sampel V.C.141 dengan penanda molekuler *psbA-trnH*

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium effusum</i>	98%	0.0	94.659	NC_084386.1
2	<i>Syzygium foxworthianum</i>	86%	0.0	94.538	OK052860.1
3	<i>Syzygium cumini</i>	81%	0.0	96.197	OR983272.1
4	<i>Syzygium cumini</i>	81%	0.0	96.197	OR983270.1
5	<i>Syzygium nemorale</i>	86%	0.0	94.328	MH826465.1
6	<i>Syzygium aqueum</i>	86%	0.0	94.328	MH826496.1
7	<i>Syzygium hylophilum</i>	86%	0.0	94.118	MH826511.1
8	<i>Syzygium aromaticum</i>	98%	0.0	89.730	LC435393.1
9	<i>Syzygium aromaticum</i>	93%	0.0	90.875	MH101986.1
10	<i>Syzygium malaccense</i>	79%	0.0	95.205	MN119685.1
11	<i>Syzygium malaccense</i>	79%	0.1	95.205	MN119687.1

Tabel 4.16 Sekuen hasil BLAST kode sampel NK dengan penanda molekuler *psbA-trnH*

No	Nama Spesies	Query Cover	Evalue	Percent Identity	Accession Number
1	<i>Syzygium polyanthum</i>	63%	0.0	94.737	NC_072979.1
2	<i>Syzygium myrtifolium</i>	63%	1.26e-178	91.268	OK052858.1
3	<i>Acmena smithii</i>	58%	1.65e-172	92.677	AM489808.1
4	<i>Syzygium acuminatissimum</i>	56%	3.56e-169	93.112	MH826455.1
5	<i>Syzygium syzygioides</i>	58%	4.61e-168	91.611	PP975770.1
6	<i>Syzygium cumini</i>	57%	4.64e-163	91.111	OK052859.1
7	<i>Syzygium nemorale</i>	63%	4.64e-163	88.978	MH826465.1
8	<i>Syzygium aqueum</i>	63%	4.64e-163	88.978	MH826496.1
9	<i>Syzygium nemorale</i>	63%	4.64e-163	88.978	MH826560.1
10	<i>Syzygium zeylanicum</i>	57%	1.67e-162	91.031	OK052864.1

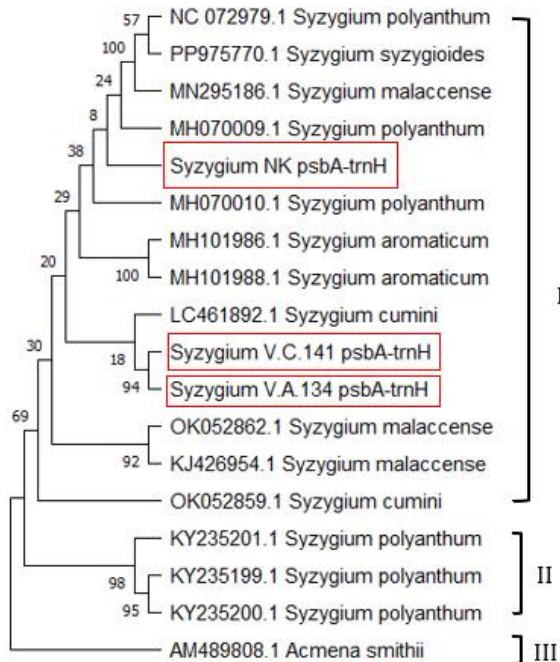
Tabel 4.17 Komposisi sekuen nukleotida dengan penanda *psbA-trnH*

Spesies	T(U)	C	A	G	Total
Syzygium V.A.134 <i>psbA-trnH</i>	41,16	9,98	35,14	13,72	481
Syzygium V.C.141 <i>psbA-trnH</i>	41,16	9,98	35,14	13,72	481
Syzygium NK <i>psbA-trnH</i>	43,17	10,13	34,80	11,89	454
NC 072979.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	31,02	14,89	41,19	12,90	403
KY235201.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	39,40	12,85	33,19	14,56	467
MH070010.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	40,89	11,82	29,06	18,23	203
MH070009.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	41,58	11,39	28,71	18,32	202
KY235199.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	39,40	12,85	33,19	14,56	467
KY235200.1 <i>S.</i> <i>polyanthum</i>	39,40	12,85	33,19	14,56	467

Species	T(U)	C	A	G	Total
OK052859.1 <i>S. cumini</i>	44,13	11,03	30,75	14,08	426
LC461892.1 <i>S. cumini</i>	43,44	10,98	31,74	13,84	419
OK052862.1 <i>S. malaccense</i>	42,53	9,47	34,95	13,05	475
PP975770.1 <i>S. syzygioides</i>	31,15	14,22	41,31	13,32	443
MN295186.1 <i>S. malaccense</i>	32,92	13,86	42,08	11,14	404
KJ426954.1 <i>S. malaccense</i>	44,39	10,28	32,01	13,32	428
MH101986.1 <i>S. aromaticum</i>	42,21	9,63	35,66	12,50	488
MH101988.1 <i>S. aromaticum</i>	42,21	9,63	35,66	12,50	488
AM489808.1 <i>A. smithii</i>	42,43	10,92	32,01	14,64	403

Tabel 4.18 Jarak genetik dengan penanda molekuler *psbA-trnH*

No	Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	<i>S. polyanthum</i> (V.C.141_psbA-trnH)																		
2	<i>S. polyanthum</i> (V.A.134_psbA-trnH)	0,0000																	
3	<i>S. polyanthum</i> (NK_psbA-trnH)	0,0819	0,0819																
4	NC 072979.1 <i>S. polyanthum</i>	1,2611	1,2611	1,2365															
5	KY235201.1 <i>S. polyanthum</i>	0,1853	0,1853	0,2135	1,3826														
6	MH070010.1 <i>S. polyanthum</i>	0,0520	0,0520	0,0252	1,1995	0,1518													
7	MH070009.1 <i>S. polyanthum</i>	0,0203	0,0203	0,0000	1,1640	0,1138	0,0254												
8	KY235199.1 <i>S. polyanthum</i>	0,1853	0,1853	0,2135	1,3826	0	0,1518	0,1138											
9	KY235200.1 <i>S. polyanthum</i>	0,1853	0,1853	0,2135	1,3826	0	0,1518	0,1138	0										
10	OK052859.1 <i>S. cumini</i>	0,0243	0,0243	0,0441	1,2297	0,1019	0,0412	0,0100	0,1019	0,1019									
11	LC461892.1 <i>S. cumini</i>	0,0171	0,0171	0,0392	1,2604	0,0970	0,0306	0,0000	0,0970	0,0970	0,0146								
12	OK052862.1 <i>S. malaccense</i>	0,0826	0,0826	0,1025	1,2528	0,1783	0,0308	0,0000	0,1783	0,1783	0,0194	0,0146							
13	PP975770.1 <i>S. syzygioides</i>	1,3595	1,3595	1,3857	0,0151	1,5714	1,2423	1,2047	1,5714	1,5714	1,3283	1,3588	1,4242						
14	MN295186.1 <i>S. malaccense</i>	1,2448	1,2448	1,2277	0,0214	1,3600	1,2283	1,1906	1,3600	1,3600	1,2229	1,2500	1,2411	0,0126					
15	KJ426954.1 <i>S. malaccense</i>	0,0290	0,0290	0,0520	1,3085	0,1183	0,0306	0,0000	0,1183	0,1183	0,0218	0,0170	0,0071	1,4627	1,2956				
16	MH101986.1 <i>S. aromaticum</i>	0,0824	0,0824	0,0908	1,3192	0,1975	0,0306	0,0000	0,1975	0,1975	0,0416	0,0244	0,0923	1,5002	1,2794	0,0414			
17	MH101988.1 <i>S. aromaticum</i>	0,0824	0,0824	0,0908	1,3192	0,1975	0,0306	0,0000	0,1975	0,1975	0,0416	0,0244	0,0923	1,5002	1,2794	0,0414	0,0000		
18	AM489808.1 <i>A. smithii</i>	0,0334	0,0334	0,0560	1,2806	0,0981	0,0444	0,0108	0,0981	0,0981	0,0286	0,0236	0,0359	1,4151	1,2900	0,0388	0,0547	0,0547	



Gambar 4.21 Pohon filogenetik menggunakan metode Neighbor Joining model substitusi Tamura-3-parameter Gamma bootstrap 1000 kali

B. PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN

1. Verifikasi *Syzygium polyanthum* berdasarkan karakter morfologi

Peneliti melakukan pengamatan morfologi pada *S. polyanthum* (NK, V.A.134, dan V.C.14) menggunakan karakteristik vegetatif, karena organ

generatif pada sampel yang dianalisis belum tersedia. Hal ini tetap dapat dilakukan karena sebagai salah satu karakteristik taksonomi, morfologi organ vegetatif menjadi dasar dalam penyusunan sistematika tumbuhan dan identifikasi spesies (Viscosi & Cardini, 2011). Hasil pengamatan sesuai tabel (tabel 4.1) sampel yang telah dilakukan pengamatan tersebut memiliki kesamaan yaitu pada tipe daun, susunan daun, stipula, tepi daun, susunan tulang daun, intramarginal vein, warna daun saat muda dan dewasa, tipe petiole, tekstur adaksial dan abaksial, tekstur batang dan ranting. Berdasarkan hasil tersebut dari 27 karakter yang telah diamati, sebanyak 16 karakter dimiliki oleh ketiga sampel. Menurut teori ketiga sampel tersebut masih berkerabat dekat. Sesuai dengan pernyataan bahwa jika antara dua jenis makhluk hidup memiliki banyak kesamaan ciri, dapat disimpulkan bahwa makhluk hidup tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Namun, jika ditemukan lebih banyak perbedaan maka hubungan kekerabatannya cenderung lebih jauh (Hasanuddin & Fitriana, 2014).

Verifikasi berdasarkan karakter morfologi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak PAST.11. Melalui perangkat lunak tersebut peneliti dapat mengetahui hubungan kekerabatan dari sampel yang dianalisis. Selain itu, dilakukan pencocokan dokumentasi dari sampel yang dianalisis tersebut dengan koleksi herbarium atau melalui laman *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF).

Hasil analisis menggunakan perangkat lunak PAST.11 didapatkan dua grafik, yaitu grafik filogenetik (pohon filogenetik) dan grafik PCA. Berdasarkan pohon filogenetik yang telah terbentuk antara ketiga sampel *S. polyanthum* (NK, V.A.134, dan V.C.141) memisah. Sampel NK berdekatan dengan *S. polyanthum* dan *S. samarangense*. Sampel V.A.134 berdekatan dengan *S. cumini*. Sampel V.C.141 berdekatan dengan *S. nervosum*, *S. nigricans*, *S. acuminatissimum*.

Grafik PCA menampilkan gambaran tentang hubungan antar individu yang tersedia sesuai dengan data. Analisis PCA ini dapat mengubah data yang rumit menjadi representasi yang lebih ringkas

tanpa kehilangan informasi yang penting (Hidayaty & Hayati, 2024). Berdasarkan gambar 4. Grafik PCA tersebut terbagi menjadi IV bagian yang disebut dengan kuadran. Sampel yang terdapat pada kuadran I mengindikasikan bahwa sampel tersebut memiliki nilai positif terhadap karakter bangun daun. Sampel yang terdapat pada kuadran IV memiliki bentuk morfologi yang berbeda dengan kudran lain. Sampel pada kuadran IV cenderung memiliki karakteristik yang berlawanan dengan sampel di kuadran I dan memiliki karakteristik yang berbeda dari sampel kuadran II dan III.

Hasil analisis pohon filogenetik dan grafik PCA dilakukan pencocokan sampel yang memiliki kekerabatan dekat. Sampel *S. polyanthum* (V.A.141 dan NK) bergabung dengan beberapa sampel yang lain, sehingga peneliti melakukan pencocokan berdasarkan dokumentasi morfologi bagian vegetatif antara dokumentasi pribadi dan data yang terapat pada database GBIF. Peneliti menemukan kesesuaian antara sampel *S. polyanthum* (NK) dengan *S. polyanthum* koleksi herbarium dan *S. polyanthum* (V.C.141) dengan *S. nervosum*. Sampel

V.A.134 dalam pohon filogenetik berdekatan dengan *S. cumini*. Hasil tersebut digunakan sebagai dugaan awal yang akan menjadi bahan pertimbangan peneliti saat melakukan analisis molekuler.

2. Verifikasi *Syzygium polyanthum* berdasarkan pendekatan molekuler

a. Hasil ekstraksi dan amplifikasi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan KIT Geneaid untuk sampel dengan kode V.A.134 dan NK, KIT Tiangen untuk sampel dengan kode V.C.141. Awal penelitian, seluruh sampel diekstraksi menggunakan KIT Tiangen, namun hanya dua dari tiga sampel (V.A.134 dan NK) yang berhasil terekstrak dengan baik, oleh karena itu, sampel V.C.141 diekstraksi ulang menggunakan KIT Geneaid. Sebelum amplifikasi dilakukan sampel hasil ekstraksi dilakukan verifikasi terlebih dahulu menggunakan penanda *rbcL* untuk mengetahui keberhasilan proses ekstraksi.

Amplifikasi dilakukan menggunakan tiga penanda molekuler yaitu ITS, *matK*, dan *psbA*-

trnH pada setiap sampel. Hal ini dilakukan untuk mengetahui penanda molekuler mana yang cocok digunakan untuk mengamplifikasi *Syzygium polyanthum*. Ketiga penanda molekuler tersebut memiliki perbedaan berdasarkan lokasi gennya, ITS berada di inti DNA, sedangkan *matK* dan *psbA-trnH* berada di kloroplas. Perbedaan yang lain yaitu berdasarkan sifatnya, ITS dan *psbA-trnH* merupakan *Non-coding*, sedangkan *matK* merupakan *coding*.

Hasil ekstraksi dan amplifikasi menunjukkan bahwa DNA dapat terekstrak dengan kuantitas yang cukup untuk proses amplifikasi, dua sampel berhasil diekstraksi menggunakan KIT Tiangen, dan satu sampel yang lain berhasil dengan KIT Geneaid, hal ini ditandai dengan munculnya pita DNA pada hasil visualisasi elektroforesis. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa keberadaan pita DNA yang tebal dan jelas saat disinari dengan sinar ultraviolet merupakan konfirmasi

keberhasilan proses ekstraksi DNA (Hikmatyar *et al.*, 2015).

Hasil amplifikasi menggunakan penanda molekuler ITS menunjukkan hasil pita DNA yang cukup tebal. Gambar visualisasi tersebut menunjukkan ketiga sampel memiliki ukuran 850 bp. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa panjang daerah ITS umumnya berkisar antara 600-900 bp (Ali *et al.*, 2014). Hal tersebut berarti DNA berhasil teramplifikasi dengan baik menggunakan penanda molekuler ITS.

Hasil amplifikasi menggunakan penanda molekuler *matK* menunjukkan hasil pita DNA yang cukup tebal. Panjang pita DNA yang dihasilkan yaitu 850 bp. Penelitian terdahulu mengenai panjang sekuen *matK*, menunjukkan bahwa gen *matK* yang terletak di genom kloroplas pada tanaman mengekspresikan protein maturase sub-unit k memiliki panjang sekitar 750-1000 bp (Manurung *et al.*, 2018). Penelitian lain menyatakan bahwa gen *matK* ini memiliki panjang sekuen sekitar 1000-1500 bp

dan terletak antara *intorn* kloroplas pada gen *trnK* (Dunning & Savolainen, 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa DNA dapat teramplifikasi dengan baik menggunakan penanda molekuler *matK*.

Hasil amplifikasi menggunakan penanda molekuler *psbA-trnH* menunjukkan hasil pita DNA yang cukup tebal. Panjang pita DNA yang terbentuk yaitu 550 bp. Secara umum panjang sekuen *psbA-trnH* pada tumbuhan berkisar antara 213-494 bp. Hal ini dikarenakan adanya variasi genetik alami pada lokasi *intergenic spacer*nya, terutama adanya keberadaan insersi/delesi atau pengulangan spesifik pada sampel. (Sumarlina & Napitupulu, 2023).

Hasil sekuensing dari masing-masing sampel menggunakan penanda molekuler ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* menunjukkan hasil yang berbeda. Kromatogram yang dihasilkan ada yang baik dan ada yang tidak. Kromatogram yang baik ditunjukkan dengan puncak yang tinggi dan tidak saling tumpang tindih antara satu dengan yang lain. Hal ini sesuai dengan

pernyataan bahwa hasil sekuensing yang baik akan menghasilkan grafik dengan puncak yang tinggi dan terpisah dengan baik, hal ini menunjukkan bahwa urutan basa dapat terbaca dengan jelas. Sebaliknya, hasil sekuensing yang buruk akan menghasilkan grafik dengan puncak yang rendah dan saling tumpang tindih. Hal ini menunjukkan adanya ketidakpastian dalam pembacaan basa (Bangol *et al.*, 2014).

Hasil BLAST menggunakan *contig* dari masing-masing sampel dan tiga penanda molekuler yaitu berupa 100 sekuen teratas yang hampir mirip dengan *contig* yang dilakukan BLAST. Laman hasil BLAST menampilkan nilai *query cover*, *expectation value* (*E-value*), dan *percent identity*. Pemilihan sekuen hasil BLAST didasarkan pada nilai paling baik dari *query cover*, *E-value*, dan *percent identity*-nya. Persentase *query cover* menunjukkan seberapa banyak urutan basa nukleotida dari sampel yang dianalisis memiliki kecocokan dengan sekuen referensi yang terdapat dalam database NCBI (Sofiyanti & Isda,

2019). Semakin tinggi persentase *query cover*, maka semakin tinggi pula tingkat kemiripannya (Mukhopadhyay *et al.*, 2018). Nilai *E value* menunjukkan seberapa banyak *alignment* dengan skor yang sesuai di database NCBI. Semakin kecil nilai *e value* (0) menunjukkan bahwa sekuen yang dibandingkan memiliki kemiripan dengan sekuen yang ada di database. Nilai *percent identity* yang tinggi menunjukkan kemiripan spesies yang dianalisis dengan spesies yang terdapat di database semakin besar (Sofiyanti & Isda, 2019). Terdapat kriteria sampel analisis memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan sampel yang terdapat di database NCBI, yaitu memiliki skor BLAST diatas 156, *e value* diatas 10^{-4} dan *percent identity* diatas 75%. Berdasarkan data tersebut, ketiga sampel yang dianalisis mnunjukkan hasil BLAST yang sesuai dengan kriteria, karena memiliki skor BLAST diatas 156, *e value* 0.0, dan *percent identity* diatas 75%. (Waterman & Smith, 1981).

Komposisi sekuen nukleotida dari masing-masing sampel menggunakan tiga penanda molekuler memiliki total basa yang berbeda. Penanda molekuler ITS memiliki komposisi total basa C dan G sebanyak 27% sedangkan basa A dan T sebanyak 21%. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa kandungan C dan G pada sekuen yang diamplifikasi menggunakan penanda molekuler ITS cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan A dan T (Magandhi & Hariri, 2020). Penanda molekuler *matK* dan *psbA-trnH* memiliki komposisi basa A dan T lebih banyak dibanding basa C dan G. Hal ini dikarenakan kloroplas memiliki komposisi nukleotida Adenin dan Timin yang lebih banyak.

Jarak genetik digunakan untuk memperkuat analisis hubungan evolusioner antara sampel yang satu dengan yang lain. Jarak genetik adalah nilai yang diperoleh dari perhitungan numerik untuk menunjukkan tingkat perbedaan genetik antar sampel dalam suatu spesies atau populasi (Saitou & Nei,

1987). Semakin tinggi jarak genetik, maka semakin jauh hubungan evolusioner antar sampel. Sebaliknya semakin rendah jarak genetik, maka semakin dekat hubungan evolusioner antar sampel tersebut (Irawan *et al.*, 2016).

b. Analisis filogenetik

Analisis filogenetik menggunakan perangkat lunak MEGA 11 metode *Neighbor Joining* (NJ) dengan model substitusi Tamura-3-parameter nilai bootstrap 1000 kali. Analisis filogenetik merupakan suatu metode untuk rekonstruksi hubungan evolusi dari kelompok organisme berdasarkan karakter yang dimilikinya. Hasil analisis umumnya disajikan dalam bentuk pohon yang memiliki banyak cabang (Irawan, 2013). Analisis *Neighbor Joining* (NJ) merupakan salah satu metode untuk rekonstruksi pohon filogenetik yang sering digunakan. Metode ini menggunakan jarak evolusioner antar spesies untuk mengkonstruksi pohonnya. Panjang cabang pada pohon yang dihasilkan merupakan

perkiraan jarak evolusioner tersebut. *Neighbor Joining* dipilih karena mampu menghasilkan pohon yang relatif akurat dalam waktu yang singkat (Kumar, 2000). Hasil pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel yang memiliki hubungan kekerabatan dekat akan tergabung dalam satu kluster. Hasil pohon filogenetik dengan menggunakan penanda molekuler ITS, *matK*, dan *psbA-trnH* memiliki perbedaan bentuk. Hal ini dapat dipengaruhi dari sejumlah faktor. Dilihat dari tingkat mutasinya, setiap penanda molekuler memiliki tingkat mutasi yang berbeda. Dilihat dari ukuran gen dan kompleksitasnya setiap penanda juga berbeda. Hal tersebut dapat menyebabkan perbedaan hasil dari pohon filogenetik yang terbentuk.

Dalam pohon filogenetik terdapat istilah *bootstrap*. Nilai *bootstrap* merupakan suatu nilai yang digunakan untuk menguji keakuratan suatu kelompok (klada) dalam pohon filogenetik (Indi, 2011). Nilai *bootstrap* yang dapat menunjukkan bahwa kelompok tersebut terbentuk secara konsisten dalam beberapa

ulangan saat analisis, yaitu di atas 85%, sehingga dapat memberikan bukti yang kuat terhadap dugaan bahwa kelompok tersebut memang berasal dari nenek moyang yang sama (Lestari & Rodiyati, 2018).

Berdasarkan penanda molekuler ITS, hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan *S. polyanthum* (V.A.134) tidak mengelompok dengan sampel manapun, karena membentuk anak cabang sendiri. *S. polyanthum* (V.C.141) bergabung dengan *S. nervosum* (KP093040 dan KP093041) dengan nilai *bootstrap* 68, nilai ini masuk kategori lemah. *S. polyanthum* (NK) bergabung dengan *S. polyanthum* (KY235230) dengan nilai *bootstrap* 100, nilai ini masuk kategori tinggi. Lestari (2018) menyatakan bahwa terdapat empat kategori nilai *bootstrap*, yaitu tinggi (>85%), moderat (70-85%), lemah (50-69%), dan sangat lemah (<50%).

Berdasarkan penanda molekuler *matK* hasil rekonstruksi pohon filogenetik (Gambar 4.16) menunjukan *S. polyanthum* (V.A.134) tidak mengelompok dengan sampel manapun,

karena membuat anak cabang pohon sendiri. Sampel *S. polyanthum* (V.C.141) mengelompok dengan *S. polyanthum* (LC737237.1) dengan nilai *bootstrap* 49. Nilai ini masuk kategori sangat lemah. Hal ini terjadi karena variabilitas yang rendah atau panjang sekuen terlalu pendek sehingga tidak memiliki cukup informasi filogenetik untuk menguatkan hubungan kekerabatan yang kompleks. Sampel *S. polyanthum* (NK) menunjukkan bahwa tidak mengelompok dengan sampel manapun, artinya sampel tersebut membuat anak cabang sendiri.

Berdasarkan penanda molekuler *psbA-trnH*, hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa *S. polyanthum* (V.A.134 dan V.C.141) mengelompok dalam satu kluster yang sama dengan nilai *bootstrap* 94. Nilai ini termasuk tinggi, sedangkan *S. polyanthum* (NK) tidak mengelompok dengan sampel yang lain, karena membentuk anak cabang sendiri.

Secara teoritis, ITS adalah penanda molekuler yang paling baik untuk

perbandingan dalam analisis sampel *S. polyanthum*, yaitu sampel kode NK. Sesuai rekonstruksi pohon filogenetik yang terbentuk, *S. polyanthum* (NK) dapat mengelompok dengan *S. polyanthum* yang terdapat pada database NCBI (KY235230.1 dan KY235231.1) dengan nilai *bootstrap* yang tinggi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa melalui pendekatan morfologi, *S. polyanthum* (NK) terverifikasi masuk ke dalam jenis *S. polyanthum* pada umumnya. *S. polyanthum* (V.C.141) masuk ke dalam *S. nervosum*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kesamaan karakter yang dimiliki oleh sampel tersebut disertai dengan hasil pohon filogenetik yang terbentuk saling mengelompok satu sama lain. Melalui pendekatan morfologi *S. polyanthum* (V.A.134) belum dapat teridentifikasi nama spesiesnya dengan tepat, karena setelah dilakukan pencocokan morfologi dengan dokumentasi literatur bagian vegetatif antara kedua sampel tersebut berbeda. Dari pendekatan morfologi tersebut, peneliti

melakukan pengamatan lanjutan yaitu dengan pendekatan molekuler untuk mendukung dugaan dari pendekatan morfologi.

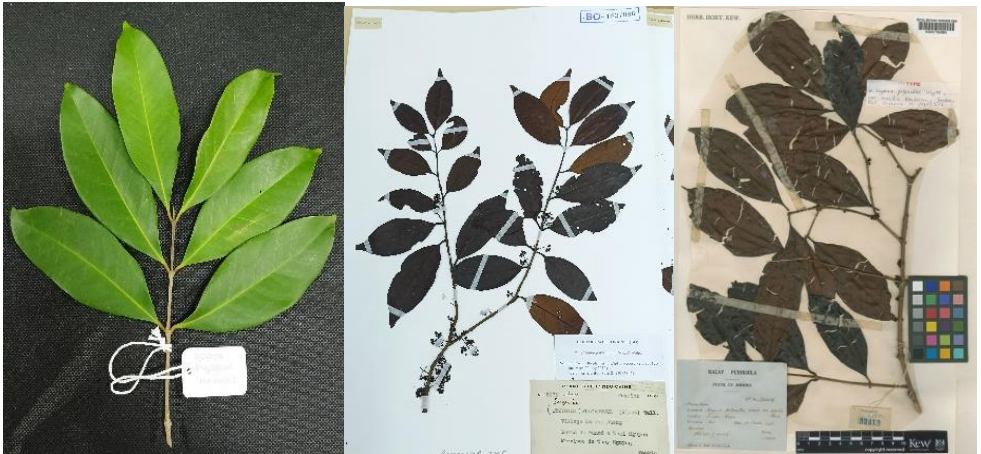
Pendekatan molekuler yang telah dilakukan menggunakan tiga penanda molekuler yaitu ITS, *matK* dan *psbA-trnH* menunjukkan hasil yang berbeda. Pohon filogenetik ITS berdasarkan gambar 4.13 memiliki pola percabangan yang sesuai dengan pola evolusi. Berdasarkan spesies *Syzygium* NK ITS terletak di klada II, berdekatan dengan dua sekuen *Syzygium polyanthum* (KY235231.1 dan KY235230.1) dengan dukungan *bootstrap* 100%. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan data ITS *Syzygium* NK ITS memang secara genetika sangat dekat dengan *Syzygium polyanthum*. Pohon filogenetik *matK* dan *psbA-trnH* dianggap kurang baik karena tidak dapat memberikan determinasi yang jelas.

Pohon filogenetik *matK* dan *psbA-trnH* tidak mampu menentukan hubungan kekerabatan evolusioner antar spesies secara akurat. Berdasarkan kedua pohon tersebut, banyak

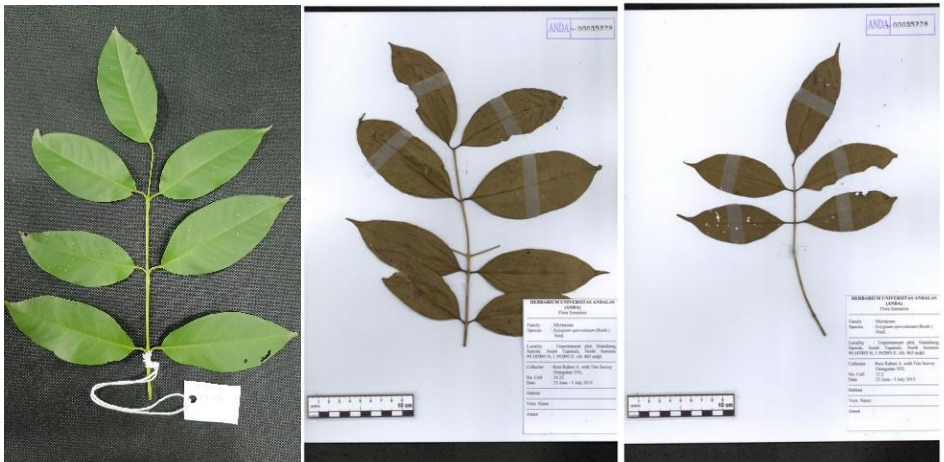
cabang mandiri yang terbentuk sehingga menyulitkan untuk menentukan hubungan kekerabatan evolusioner antar sampel. Dari penjelasan tersebut, untuk identifikasi spesies yang sangat spesifik, jika *matK* dan *psbA-trnH* menunjukkan variasi genetik yang rendah diantara spesies *Syzygium* tertentu, maka ITS dapat berfungsi sebagai penanda molekuler yang lebih diskriminatif.

Dari tiga pohon filogenetik yang dihasilkan, peneliti berpendapat bahwa pohon yang menggunakan penanda molekuler ITS lebih baik dalam memisahkan sampel berdasarkan perbedaan genetiknya, sehingga memungkinkan identifikasi dan klasifikasi yang akurat. Pemilihan ini didasarkan pada kemampuan ITS yang optimal dalam mengamplifikasi sampel, sehingga menghasilkan pohon filogenetik yang berkualitas baik. Hasil analisis menunjukkan bahwa *S. polyanthum* (NK) tergabung dengan *S. polyanthum* NCBI dengan nilai *bootstrap* yang tinggi yaitu 100. Data tersebut terverifikasi

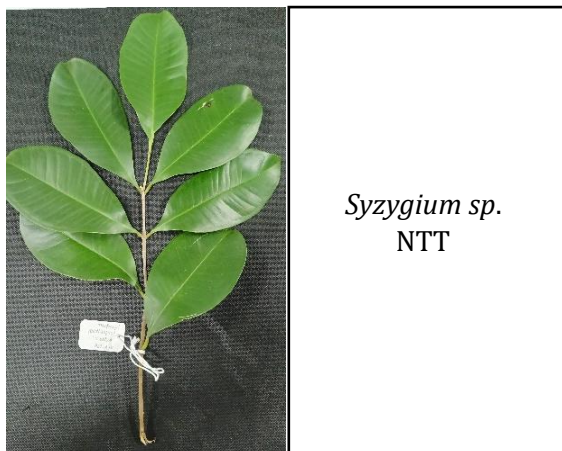
bahwa NK adalah *S. polyanthum*. *S. polyanthum* (V.C.141) bergabung dengan *S. nervosum*, namun dengan nilai bootstrap yang lemah yaitu 68. Pencocokan dokumentasi morfologi dilakukan dari data pribadi peneliti dengan data yang terdapat pada database GBIF. Hasil pencocokan data menunjukkan adanya kemiripan morfologi dari kedua spesies tersebut. Data tersebut terverifikasi bahwa V.C.141 merupakan *S. nervosum*. *S. polyanthum* (V.A.134) berdasarkan pohon filogenetik tersebut tidak bergabung dengan spesies manapun. Peneliti menduga jika spesies tersebut memang belum diketahui nama spesiesnya. Berdasarkan hasil BLAST menggunakan penanda molekuler ITS yang telah dilakukan, spesies yang muncul paling atas yaitu *Syzygium sp.* NTT. Peneliti menduga bahwa V.A.134 merupakan *Syzygium sp.* Berikut ditampilkan hasil pencocokan dokumentasi sampel pribadi dengan database GBIF. Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.22; 4.23; dan 4.24.



Gambar 4.22 (A) *S. polyanthum* (NK) (B) *S. polyanthum* koleksi herbarium (C) *S. polyanthum* GBIF
Sumber : dokumentasi pribadi; GBIF, 2024



Gambar 4.23 (A) *S. polynthum* (V.C.141) (B) *S. nervosum* GBIF (C) *S. nervosum* GBIF
Sumber : dokumentasi pribadi; GBIF, 2024



Gambar 4.24 (A) *S. polynthum* (V.A.134) (B) *Syzygium*
sp. NTT

Sumber : dokumentasi pribadi

BAB V

PENUTUP

1. Simpulan

Berdasarkan penelitian dan analisis hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. *S. polyanthum* di Kebun Raya Bogor memiliki karakteristik morfologi yaitu tipe daun tunggal, susunan daun opposite, termasuk daun tidak lengkap, tidak memiliki stipula daun, tepi daun entire, susunan tulang daun brochidodromous, warna daun hijau, tipe petiole petiolate, tekstur petiole terete, tekstur daun halus, dan tekstur batang yang mengelupas.
2. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penanda molekuler ITS memiliki kapasitas yang lebih kuat untuk memverifikasi jenis *Syzygium polyanthum* dibandingkan dengan *matK* dan *psbA-trnH*. Karena penanda molekuler ITS mampu memberikan determinasi yang jelas terhadap pohon filogenetik yang terbentuk.
3. Penanda molekuler ITS dapat berfungsi sebagai penanda molekuler yang lebih diskriminatif untuk memisahkan *S. polyanthum* dari spesies lain dalam

genus yang sama. Pohon filogenetik *matK* dan *psbA-trnH* tidak mampu menentukan hubungan kekerabatan evolusioner antar spesies secara akurat, karena banyak cabang mandiri yang terbentuk sehingga menyulitkan untuk menentukan hubungan kekerabatan evolusionernya.

4. Berdasarkan penanda molekuler ITS posisi *S. polyanthum* (NK) dalam pohon filogenetik mengelompok dengan *S. polyanthum* (KY235230) dengan nilai bootstrap 100, *S. polyanthum* (V.C.141) mengelompok dengan *S. nervosum* (KP093040 dan KP093041) dengan nilai bootstrap 69, *S. polyanthum* (V.A.134) tidak mengelompok dengan spesies manapun.

2. Saran

Berdasarkan keterbatasan penelitian dan hasil penelitian, terdapat saran dari peneliti untuk penelitian selanjutnya, yaitu sebagai berikut:

1. Spesies yang dianalisis sebaiknya memiliki organ vegetatif dan generatif yang lengkap supaya dapat dilakukan pengamatan yang lebih efektif.

2. Dokumentasi spesies sebaiknya dilakukan dengan lebih jelas supaya lebih mudah saat melakukan pengamatan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut supaya dapat mengetahui spesies yang belum teridentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, B., Baider, C., Bernardini, B., Biffin, E., Brambach, F., Burslem, D., ... & Wilson, P. G. (2016). *Syzygium* (Myrtaceae): Monographing a taxonomic giant via 22 coordinated regional revisions.
- Ali, M.A., Gyulai, G., Hidvegi, N., Kerti, B., AlHemaid, F.M.A., Pandey, A.K., L. J. (2014). "The Changing Epitome of Species Identification – DNA Barcoding." *Saudi Journal of Biological Sciences* 2 (1): 204–231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016%2Fj.sjbs.2014.03.003>.
- Aprilianingsih, R., Wahidah, B. F., & Hariri, M. R. (2022). DNA Barcode of *Homalomena pexa* inferred from Internal Transcribed Spacer region. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 4(2), 69-74.
- Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113-119.
- Brambach F, Byng JW, Culmsee H (2017) Five new species of *Syzygium* (Myrtaceae) from Sulawesi, Indonesia. *PhytoKeys* 81: 47-78. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.81.13488>
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., & Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Cock, I. E., & Cheesman, M. A. T. T. H. E. W. (2018). Plants of the genus *Syzygium* (Myrtaceae): A review on

- ethnobotany, medicinal properties and phytochemistry. *Bioactive compounds of medicinal plants: Properties and potential for human health*, 35-84.
- Dasuk. (2002). *Morfologi dan Sistematis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Dunning, L.T., & Savolainen V. (2010). Broad-scale amplification of matK for DNA barcoding plants, a technical note. *Botanical Journal of the Linnean Society*. vol. 164: 1–9.
- Ekasari, T. W. D., Retnoningsih, A., & Widiyanti, T.(2012). “Pcr- Rflp Pada Internal Transcribed Spacer (ITS) Dna Ribosom.” *Jurnal MIPA* 35 (1): 21–30. <https://doi.org/https://doi.org/https://doi.org/10.15294/ijmns.v35i1.2093>.
- Galingging, A. (2022). *Kunci Determinasi Famili Dipterocarpaceae Di Arboretum Universitas Lancang Kuning* (Doctoral dissertation, Universitas Lancang Kuning).
- Gembong. T. (2004). *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Handayani, R. (2020). *Metodologi Penelitian Sosial*. Yogyakarta. Trussmedia Grafika.
- Hasanuddin, H., & Fitriana, F. (2014). Hubungan kekerabatan fenetik 12 spesies anggota familia Asteraceae. *Jurnal EduBio Tropika*, 2(2).
- Hebert, P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., & DeWaard J.R. (2003). Biological identifications through Barcodes. *Proc Roy Soc B Bio*. vol. 270: 313–321.

- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball S.L., & DeWaard, J.R. (2003). "Biological Identifications Through DNA Barcodes." *Proc.Biol. Sci*, no. 230: 313–321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1098%2Frsph.2002.2218>.
- Helmstädter, A. (2008). *Syzygium cumini* (L.) SKEELS (Myrtaceae) against diabetes–125 years of research. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(2), 91-101.
- Hidayat, T., Kusumawaty, D., Din, Y., M, A., & D, M. (2008). Analisis Filogeneti Molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) Menggunakan Urutan Basa DNA daerah Internal Transcribed Spacer (ITS). *Matematika & Sains*, 13(1), 16–21.
- Hidayaty, A. N., & Hayati, E. K. (2024). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Secara Kemometrik Daun Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) Berdasarkan Lokasi Tumbuh. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 12(1), 59-67.
- Hikmatyar, M. F., & Royani, J. I. (2015). Isolasi dan amplifikasi DNA keladi tikus (*Thyponium flagelliform*) untuk identifikasi keragaman genetik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 2(2), 42-48.
- Hollingsworth, P.M. (2011). Refining the Barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 108 (49):
- Hollingsworth, P.M. (2011). Refining the Barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 108 (49):19451–19452.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1116812108> PMID: 22109553.

- Indi, D. (2011). *Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah EVolusi*. Wartazoa, 21(1), 1–10.
- Irawan, P. D., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2016). Analisis sekuens dan filogenetik beberapa tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara berdasarkan gen matK. *Jurnal Ilmiah Sains*, 43-50.
- Jannah, M., Hariri, M. R., kasiamdari, R. S., & Handayani, N. S. N. (2021). "The Use of DNA Barcoding and Phylogenetic Analysis to Improve Identification off *Usnea* Spp. Based on ITS RDNA." *Journal Of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 6 (1). <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/jtbb.58635>.
- Kowalska, Z., Pniewski, F., & Latała, A. (2019). "DNA Barcoding– A New Device in Phycologist's Toolbox. *Ecohydrology & Hydrobiology*" 19 (3): 417-427. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2019.01.002>.
- Kress, W. J. & D. L. Erikson. (2012). "DNA Barcodes: Methods and Protocols, *Methods in Molecular Biology*" 858. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-591-6_1.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369–8374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>

- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 5(2), 187-187.
- 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), 1-7.
- Lima, R. A., Oliveira, A. A. D., Colletta, G. D., Flores, T. B., Coelho, R. L. G., Dias, P., ... & Chave, J. (2018). Can plant DNA barcoding be implemented in species-rich tropical regions? A perspective from São Paulo State, Brazil. *Genetics and molecular biology*. vol. 41(3): 661-670
- Lutfiasari, N., & Dharmono, D. (2018). Keanekaragaman spesies tumbuhan famili Myrtaceae di Hutan Pantai Tabanio, Kecamatan Takisung, Kabupaten Tanah Laut. In *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah* (Vol. 3, No. 1).
- Magandhi, M., & Hariri, M. R. (2020, September). Variabilitas genetik *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner berdasarkan sekuen *internal transcribed spacer*. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 6, No. 1, pp. 286-293).
- Manurung, J., Prakasa, H., Tanjung, U. J., & Harsono, T. (2018). Hubungan kekerabatan spesies dalam genus *Zanthoxylum* menggunakan sekuen gen

- maturase K (matK) DNA Kloroplas. *Jurnal Biosains Unimed*, 4(02), 69-77.
- Merrill ED, dan Perry LM, (1939). The myrtaceous genus *Syzygium* Gaertner in Borneo, Memories of American Academy of Arts and Sciences. 13(13): 135-202
- Mishler, B.D. (2010). Integrative Biology 200A: Principles of Phylogenetics, Spring Feb. 9 2010. , (http://ib.berkeley.edu/courses/ib200a/lect/ib200a_lect06_Mishler_ontogen_y_plants.pdf), 16 Jan. 2011.
- Mudiana, D. (2016). *Syzygium* diversity in Gunung Baug, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 17(2).
- Mukaromah, AS (2020). Apel Lilin (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & LM Perry): Tinjauan Komprehensif dalam Perspektif Fitokimia dan Fisiologis. *Al-Hayat: Jurnal Biologi dan Biologi Terapan*, 3(1), 40. <https://doi.org/10.21580/ah.v3i1.6070>
- Mukhopadhyay, C. S., Choudhary, R. K., & Iquebal, M. A. (2017). *Basic applied bioinformatics*. John Wiley & Sons.
- Nithaniyal, S., & Parani, M. (2016). Evaluation of chloroplast and nuclear DNA barcodes for species identification in *Terminalia* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.08.001>
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford university press.

- Nogueira, AM., Ferreira, A., and da Silva Ferreira, MF. (2016). Transferability of Microsatellites from *Psidium guajava* to *Eugenia*, *Myrciaria*, *Campomanesia*, and *Syzygium* species (Myrtaceae). *Plant Molecular Biology Reporter*. vol 34: 249-256
- Orhan, N. (2021). Laboratory Guidance Document. December. www.botanicaladulterants.org
- Rahayu, D. ., & Jannah, M. (2019). DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.
- Rahma, A. M., Zahra, A., & Supriatna, A. (2023). Inventarisasi Tumbuhan Famili Myrtaceae Di Kampung Andir, Rt. 01/Rw. 08, Desa Rancamulya, Sumedang. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Tanaman*, 2(1), 53-64.
- Roslim, D. I., Nurkhairani, P., & Herman, E. R. (2016). Identification of durik-durik plant (*Syzygium* sp.) using the psbA-trnH intergenic spacer and ITS regions. *TPGM*, 3, 11-16.
- Sembiring, B.S., Winarti, C. & Baringbing. B. (2003). Identifikasi Komponen Kimia Minyak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) dari Sukabumi dan Bogor. *Buletin Tanaman Rempah dan Obat* 12(2) : 9- 15.
- Singh, H. K., Parveen, I., Raghuvanshi, S., & Babbar, S. B. (2012). The loci recommended as universal barcodes for plants on the basis of floristic studies may not work with congeneric species as exemplified by DNA barcoding of *Dendrobium* species. *BMC research notes*, 5, 1-11.

- Smith, A.B. (1997). Echinoderm Phylogeny: How Congruent Are Morphological and Molecular Estimates. *Paleontological Society*, 3, 1997: 337-355.
- Sofiyanti, N., & Isda, M. N. (2019). Paku Kawat *Lycopodiella cernua* (L.) Pic. Serm. (*Lycopodiaceae-Lycopodiales*) dari Provinsi Riau-Kajian Morfologi dan Sekuen DNA berdasarkan Primer RBCL. *Jurnal Biologi UNAND*, 7(1), 43-50.
- Štorchová, H., & Olson, M. S. (2007). The Architecture of The Chloroplast psbA-trnH Non-Coding Region In Angiosperms. *Plant Systematics and Evolution*, 268(1-4), 235-256.
<https://doi.org/10.1007/s00606-007-0582-6>
- Sumarlina, S., & Napitupulu, T. S. (2023). Evaluasi Aplikasi DNA Barcode Lokus psbA-trnH pada Genus *Momordica*. *Jurnal Biotek*, 11(2), 182-195.
- Tarran, M., Wilson, P. G., Paull, R., Biffin, E., & Hill, R. S. (2018). Identifying fossil Myrtaceae leaves: the first described fossils of *Syzygium* from Australia. *American Journal of Botany*, 105(10), 1748-1759.
- Virgilio, M., Jordaens, K., Breman, F. (2012). Turning DNA Barcodes Into an Alternative Tool for Identification: African Fruit Flies as a Model (Poster). Consortium for the Barcode of Life (CBOL).
- Viscosi, V., & Cardini, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. *PloS one*, 6(10), e25630.

- Waldchen, J., Rzanny, M., Seeland, M., & Mäder, P. (2018). "Automated Plant Species Identification—Trends and Future Directions." *PLoS Comput Biol* 14 (4). <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005993>
- Waryono T. (2001). The role and functions of services of bio-eco-hydrological communities along the river. *Proceeding of National Seminar on Integrated Watershed Management Java-Bali*. Department of Forestry, Jakarta, June 2001. [Indonesian]
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Smith, T. F., & Waterman, M. S. (1981). Identification of common molecular subsequences. *Journal of molecular biology*, 147(1), 195-197.
- Widiyawati, T., Purnawan, W.W., Yam, M.F., Asmawi, M.Z., Ahmad, M. (2012). The Use of Medicinal Herbs Among Diabetic Patients in Health Community Centre Sering, Medan, Indonesia. in: *Proceedings of the MSPP2012 Conference, Penang, Malaysia*, 19–20 May 2012; pp. 113–114.
- Wilson, PG and Kubitzki, K. (2011). Myrtaceae flowering plants. eudicots. In *The Families and Genera of Vascular Plants*. New York: Springer
- Yang, B., Zhang, Z., Yang, C. Q., Wang, Y., Orr, M. C., Wang, H., & Zhang, A. B. (2022). Identification of species by combining molecular and morphological data using

convolutional neural networks. *Systematic Biology*, 71(3), 690-705.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen *S. polyanthum*

a. *S. polyanthum* penanda molekuler ITS

>Sekuen *S. polyanthum*_141F_ITS

TTCGCCGCCGATGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCT
TATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCC
GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCTGAATCCTGC
CTAACCAAATGACCAGAAAACCGGTAACCAACTCCATG
GAAAAGGGGGGCTCCCCCACGTCTCTAAACGCTTGG
ATGGGACGGGTGCCTACGGGCGCTCGGGCTTTTTTCTCG
GCGGGACAACCAACCCCGCGCGGAATGGCCCCAGGAA
CTTTAACCAGAAAACCATGCTCCCCCCCCCCCCAAAAT
GGTGGCCCTGCCGATGCCCTGCCATCTCCTATTATTC
CTAACCACTCTCCGCAACCGATATCTCCGCTCTCCCTT
CCATTAAAAACCTAACCAACTGCCATACTTGGTGTGAA
TTGCCAAATCCCCTGAACCATCCAATCTTTGAACCCCA
GTTGGCCCCCCTAACTTCCGCTGAAGGCCCTTTTGCTT
GGGTGTCCCCCTGGCCTTGCCCCCTAACCCCTCCCCTT
GAATTGGGCCGCGCGGACTTGGGCGCCTATGTTGGCCT
CCCCAAANACCTTATCCCCGTTGGCCCCAAAATCCAAC
CNTGGAACCAATAACCCACCACCTTCCGTGGTTGATT
AAACCCCCATGGTCCATGTCCTGCCTGTCGCTCATGCA
CATGCTCCACCAATCTACCTTTCACCAACCCACCCCC
AGTCCAGCCGGGCTACCCGCTGAATTTAAGCATATCCA
TAAAGCGGAAGAAAAGAAAATAACCAAGGATTCCTT

>Sekuen *S. polyanthum*_141R_ITS

AAGTGTTTCGNATGGCGGCGANGTGGGCGGTTGCCGCG
GATGACTTCGCGAGAATTCCATTGACCCCTTATCATTTA
GAGGAAGGAGAAGTGGTACCAAGGTTTCGGTAGGTGAC
CTTGCGGAAGGATCATGGTGGATTCTGCTAGCAGAA
TGACCAGAGAACCGGTAACAACTCAATGGAGACGGTG
GGCCTCGCCCAACGTCTCTAGACGCTTGGATGGCACGG
GTGCCTACGGGCGCTCGGGCTTTTTTCTCGGCGGCACAA

CGAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAA
GAGAGCGATGCTCCCGCCGCCCCAGACATGGTGCGCGT
GCGGGATGCCATGCAATCTCCTATTATTACATAACGACT
CTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGA
ACGTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAA
CCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCC
G-

AAGCTTCGGCTGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTCACAC
ATGGCGTTGCCCCAACCCTCGCCTTGAATGGGGCGG
GCGGGACTTGGGCGCGTATGTTGGCCTCCCGAGATGAC
CTTATCCCGGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGGAGCGAT
TAGCACCACGACATTCGGTGGTTGATGAGACCCCAATG
GTCAATGTGCGTGCCTGTCGCTCATGCACATGCTCCACG
AATCTACCTTTACCAACGCGACCCCAGGTCAAGCGGG
GCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGG

>Sekuen *S. polyanthum*_141 ITScontig

AAGTGTTTCGNATGGCGGGCGANGTGGGCGGTTGCCGCG
GATGACTTCGCGAGAATTCCATTGACCCCTTATCATTTA
GAGGAAGGAGAAGTGGTACCAAGGTTTCGGTAGGTGAC
CTTGCGGAAGGATCATGGTGGATTCTCGCCTAGCAGAA
TGACCAGAGAACCGGTAACAACTCAATGGAGACGGTG
GGCCTCGCCCAACGTCTCTAGACGCTTGGATGGCACGG
GTGCCTACGGGCGCTCGGGCTTTTTCTCGGCGGCACAA
CGAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAA
GAGAGCGATGCTCCCGCCGCCCCAGACATGGTGCGCGT
GCGGGATGCCATGCAATCTCCTATTATTACATAACGACT
CTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGA
ACGTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAA
CCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCC
G-

AAGCTTCGGCTGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTCACAC
ATGGCGTTGCCCCAACCCTCGCCTTGAATGGGGCGG
GCGGGACTTGGGCGCGTATGTTGGCCTCCCGAGATGAC

CTTATCCCGGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGGAGCGAT
TAGCACCACGACATTTCGGTGGTTGATGAGACCCCAATG
GTCAATGTCGTGCGTGTCGCTCATGCACATGCTCCACG
AATCTACCTTTCACCAACGCGACCCCAGGTCAAGCGGG
GCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAA-
GCGGAGGAAAAGAAAATAACCAAGGATTCCCCT

>Sekuen *S. polyanthum*_134F_ITS

TCGCCGCCGATGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTT
ATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGTTTCCG
TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCTGAATCCTGCC
TAGCAGAATGACCAGAGAACCAGTAAAAAACTCAATGG
GGACGGTGGGCCTCGCCCAACGTCTCCAGACGCTTGGA
TGGCACGGGTGCCTACGGGCGCTCGGGCTTTTTTCTCGG
CGGCACAACGAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAAC
TTTAACAAGAGAGCGATGCTCCCGCCGCCCAAACATG
GTGCGTGCGCGGGATGCCAAGCAATCTCCTATTATTCA
TAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATC
GATGAAAAACGTACCGAACTGCAATACTTGGTGTGAAT
TGCAAAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAG
TTGCGCCCCGAAAGCTTTGCTTAGGGCACGTTTGCCTGG
GTGTCACACATGGCGTTGCCCTTACCCCTCGCCTTGA
ATTGGGCGGGCGGGACTTGGGTGCGTATGTTGGCCTCC
CGAGATGACCTTATCCCGGTTGGCCCAAATCGAGCGT
TGGAGCGATCATAGCACCACGACATTTCGGTGGTTGATG
AGACCCCAATGATCAAAATGTCGTGCGTGTCGCTCATG
CACATGCTCCACGAATCTACCTTTCACCAACGCGACCC
CAGGTCAAGCGGGGCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATC
AATAAGCGGAGGAAAAGAAAATAACAAGGATTCCCCTA
G

>Sekuen *S. polyanthum*_134R_ITS

GGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTCCCGCCGATGACGT
CGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGG

AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA
 AGGATCATTGTCTGAATCCTGCCTAGCAGAATGACCAGA
 GAACCAGTAAAAAACTCAATGGGGACGGTGGGCCTCGC
 CCAACGTTTCCAGACGCTTGGATGGCACGGGTGCCTAC
 GGGCGCTTGGGCTTTTTCTCGGCGGCACAACGAACCCC
 GGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAAGAGAGCGA
 TGCTCCCGCCGCCCCAGACATGGTGCCTGCGCGGGATG
 CCAAGCAATCTCCTATTATTCATAACGACTCTCGGCAA
 CGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCG
 AACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAA
 CCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAAGCTT
 TGCTTAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTACACATGGCGT
 TGCCCCCTTACCCCTCGCCTTGAATTGGGCGGGCGGGAC
 TTGGGTGCGTATGTTGGCCTCCCGAGATGACCTTATCC
 CGGTTGGCCCAAATCGAGCGTTGGAGCGATCATAGCA
 CCACGACATTCGGTGGTTGATGAGACCCCAATGATCAA
 AATGTGCTGCGTGTGCTCATGCACATGCTCCACGAAT
 CTACCTTTACCAACGCGACCCAGGTCAAGCGGGGCT
 ACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAA
 G

>Sekuen *S. polyanthum*_134_ITS_contig

GGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTTCGCCGCCGATGACGT
 CGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGG
 AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGA
 AGGATCATTGTCTGAATCCTGCCTAGCAGAATGACCAGA
 GAACCAGTAAAAAACTCAATGGGGACGGTGGGCCTCGC
 CCAACGTTTCCAGACGCTTGGATGGCACGGGTGCCTAC
 GGGCGCTTGGGCTTTTTCTCGGCGGCACAACGAACCCC
 GGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAAGAGAGCGA
 TGCTCCCGCCGCCCCAGACATGGTGCCTGCGCGGGATG
 CCAAGCAATCTCCTATTATTCATAACGACTCTCGGCAA
 CGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCG
 AACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAA

CCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAAGCTT
TGCTTAGGGCACGTTTGCTGGGTGTACACATGGCGT
TGCCCTTACCCCTCGCCTTGAATTGGGCGGGCGGGAC
TTGGGTGCGTATGTTGGCCTCCCGAGATGACCTTATCC
CGGTTGGCCCAAATCGAGCGTTGGAGCGATCATAGCA
CCACGACATTGGGTGGTTGATGAGACCCCAATGATCAA
AATGTCGTGCGTGTGCTCATGCACATGCTCCACGAAT
CTACCTTTCACCAACGCGACCCAGGTCAAGCGGGGCT
ACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAA
GAAACTAACAAGGATTCCCCTAG

>Sekuen *S. polyanthum*_NKF_ITS

GTTTCGCCGCCGATGACGTGCGGAGAAGTCCACTGAACC
TTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTC
CGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCTGAATCCTG
CCTAGCAGAATGACCAGAGAACCGGTAACAACTCAAT
GGGGACGGTGGGCCTCGCCCAACGTCTCCAGACGCTTG
GATGGCACGGGTGCCCACGGGCGCTCGGGCTTTTCTCG
GCGGCACAACGAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAA
CTTTAACAAGAGAGCGACGCTCCCGCCGCCCCAGACAC
GGTGCGCGTGCGGGATGCCATGCAATCTCCTATTATTC
ATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCAT
CGATGAAGAACGTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAA
TTGCAGAAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAA
GTTGCGCCCGAGAGCTTAGGCTGAGGGCACGTTTGCTT
GGGTGTACACGTGGCGTTGCCCCTAACCCCTCGCCTT
GAATTGGGCGGGCGGGACTTGGGCGCGTACGTTGGCCT
CCCGAGATGACCTCATCCCGGTTGGCCTAAAATCGAGC
GTCGGAGCGATTAGCACCACGACATTCGGTGGTTGATG
AGACCCCAATGATCAATGTCGCGCGTGTGCTCGTGCA
CACGCTCCGCGAATCTACCTTTCACCAACGCGACCCCA
GGTCAAGCGGGGCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAA

TAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGT
A

>Sekuen *S. polyanthum*_NKR_ITS

AGTGTTCGGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTCGCCGCCG
ATGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAG
AGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAAC
CTGCGGAAGGATCATTGTCTGAATCCTGCCTAGCAGAAT
GACCAGAGAACCGGTAACAACTCAATGGGGACGGTGG
GCCTCGCCCAACGTCTCCAGACGCTTGGATGGCAGGGG
TGCCACGGGCGCTCGGGCTTTTCTCGGCGGCACAACG
AACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAAGA
GAGCGACGCTCCCGCCGCCCCAGACACGGTGC GCGTGC
GGGATGCCATGCAATCTCCTATTATTATAACGACTCT
CGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAAC
GTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCC
CGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGA
GAGCTTAGGCTGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTACAC
GTGGCGTTGCCCCTAACCCCTCGCCTTGAATTGGGCGG
GCGGGACTTGGGCGCGTACGTTGGCCTCCCGAGATGAC
CTCATCCCGGTTGGCCTAAAATCGAGCGTCGGAGCGAT
TAGCACACGACATTTCGGTGGTTGATGAGACCCCAATG
ATCAATGTCTGCGCGTGTCTGCTCGTGCACACGCTCCGCG
AATCTACCTTTCACCAACGCGACCCCAGGTCAAGCGGG
GCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA
A

>Sekuen *S. polyanthum*_NK_ITS_contig

AGTGTTCGGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTCGCCGCCG
ATGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAG
AGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAAC
CTGCGGAAGGATCATTGTCTGAATCCTGCCTAGCAGAAT
GACCAGAGAACCGGTAACAACTCAATGGGGACGGTGG
GCCTCGCCCAACGTCTCCAGACGCTTGGATGGCAGGGG
TGCCACGGGCGCTCGGGCTTTTCTCGGCGGCACAACG

AACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAAC TTTAACAAGA
 GAGCGACGCTCCCGCCGCCCCAGACACGGTGC GCGTGC
 GGGATGCCATGCAATCTCCTATTATT CATAACGACTCT
 CGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAAC
 GTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCC
 CGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGA
 GAGCTTAGGCTGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTCACAC
 GTGGCGTTGCCCCTAACCCTCGCCTTGAATTGGGCGG
 GCGGGACTTGGGCGCGTACGTTGGCCTCCCGAGATGAC
 CTCATCCCGGTTGGCCTAAAATCGAGCGTCGGAGCGAT
 TAGCACCACGACATTCGGTGGTTGATGAGACCCCAATG
 ATCAATGTCGCGCGTGTGCTCGTGCACACGCTCCGCG
 AATCTACCTTTACCAACGCGACCCCAGGTCAAGCGGG
 GCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA
 AAAGAAACTAACAAGGATTCCCCTAGTA

b. *S. polyanthum* penanda molekuler *matK*

>Sekuen *S. polyanthum*_141F_matK

GTGCCTCTTCTTTGCATTTATTACGTTTCTTTCTCCAC
 GAGTATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAACATAT
 TACCCTTTTTTCAAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGT
 TCCTATATAATTCTCATATATGTGAATACGAATCCATC
 TTTCTTTTTTCTCCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTC
 AACATCTTCTGGAATCTTTTTTGAGCGAATCTATTTCT
 ATGTAAAAATAGAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGAT
 AATGATTTTTCAGTGCATCCTATGGTTCTTCAAAGATCC
 TTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTC
 TGGCTTCAAAAGATACGCCTCTTCTGATGAATAAATGG
 AAATATTACCTTGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTTA
 TGCGTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAAACAAT
 TATGCAAGTATTCTCTTGACTTTTTGGGCTATCGTTCA
 AGCGTACGACTAAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAAT
 GCTAGAAAATTCATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGA
 AGTTCGAGACAATAGTTCCAATTATTCTCTGATTGGA

TCATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTAGCACATTAGGGCA
TCCCATTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATT
CTGATATTCTCGATCGTTTTTTTGC GTATATGCAGAAAT
CTTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAGAG
TTTATATCGAGTAAAATATATACTTCGACTTTCTTGTG
TTAAACTTTG

>Sekuen *S. polyanthum*_141R_matK

TTCAAACCCCTTCGCTACTGGGTGAAAGATGCCTCTTCT
TTGCATTTATTACGTTTCTTTCTCCACGAGTATTGGAA
TAGTCTTATTACTCCAAAGAAACATATTACCCTTTTTT
CAAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGTTCCATATAAT
TCTCATATATGTGAATACGAATCCATCTTTCTTTTCT
CCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTCAACATCTTCTG
GAATCTTTTTTGTAGCGAATCTATTTCTATGTAAAAATA
GAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGATAATGATTTTCA
GTGCATCCATGGTTCTTCAAAGATCCTTTCATGCATT
ATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAA
GATACGCCCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCT
TGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTATGCGTGGTTTC
AACCAGGAAGGATCGATATAAAACAATTATGCAAGTAT
TCTCTTGACTTTTTGGGCTATCGTTCAAGCGTACGACT
AAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTAGAAAATT
CATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAAGTTCGAGACA
ATAGTTCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGTCTAA
AGCGAATTTTTGTAGCACATTAGGGCATCCCATTAGTA
AACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTCTC
GATCGTTTTTTGCGTATATGCAGAAATCTTCTCATTA
TCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAG
TAAAATATATA

>Sekuen *S. polyanthum*_141_matK_contig

TTCAAACCCCTTCGCTACTGGGTGAAAGATGCCTCTTCT
TTGCATTTATTACGTTTCTTTCTCCACGAGTATTGGAA
TAGTCTTATTACTCCAAAGAAACATATTACCCTTTTTT

CAAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGTTCCCTATATAAT
 TCTCATATATGTGAATACGAATCCATCTTTCTTTTCT
 CCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTCAACATCTTCTG
 GAATCTTTTTTGAGCGAATCTATTTCTATGTAAAAATA
 GAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGATAATGATTTTCA
 GTGCATCCTATGGTTCTTCAAAGATCCTTTTCATGCATT
 ATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAA
 GATACGCCCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCT
 TGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTATGCGTGGTTTC
 AACCAGGAAGGATCGATATAAAACAATTATGCAAGTAT
 TCTCTTGACTTTTTGGGCTATCGTTCAAGCGTACGACT
 AAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTAGAAAATT
 CATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAAGTTCGAGACA
 ATAGTTCCAATTATTCTCTGATTGGATCATTGTCTAA
 AGCGAATTTTTGTAGCACATTAGGGCATCCATTAGTA
 AACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTCTC
 GATCGTTTTTTGCGTATATGCAGAAATCTTTCTCATTA
 TCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAG
 TAAAATATATACTTCGACTTTCTTGTGTTAAACTTTG

>Sekuen *S. polyanthum*_134F_matK

NTTCTGCATNTTATTACGTTTCTTTCTCCACGAGTATT
 GGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAACATATTATCCTT
 TTTTCAA-
 GGTAATCCAAGATTATTCTTGTTCCCTATATAATTCTCA
 TATATGTGAATACGAATCCATCTTTCTTTTTCTCCGTA
 ATCAATCTTCTCATTTACGGTCAACATCTTCTGGAATC
 TTTTTTGAGCGAATCTATTTCTATGTAAAAATAGAACA
 TTTTGCCAAAGTCTTCTTTGATAATGATTTTCAGTGTA
 TCCTATGGTTCTTCAAAGATCCTTTTCATGCATTATGTT
 AGATATCAAGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAGATAC
 GCCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCTTGTTA
 CTTTATGGCAATATCATTTTTATGCGTGGTTTCAACCA

GGAAGGATCGATATAAAACCAATTATGCAAGTATTCTCT
TGACTTTTTGGGCTATCGTTCAAGCGTACGACTAAATT
CTTCAGTGGTGCGAAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTT
CTAATAAATAATGCTATGAAGAAGTTCGAGACAATAGT
TCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGTCTAAAGCGA
ATTTTTGTAACACATTAGGGCATCCCATTAGTAAACCG
ACCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTATCGACCG
TTTTTTGCGTATATGCATAAATCTTCTCATTATCACA
GTGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAGTAAAA
TATATACTTCGACTTTCTTGTGTTAAACTT

>Sekuen *S. polyanthum*_134R_matK

TGGTTCAAACCCCTTCGCTACTGGGTGAAAGATGCCTCT
TCTTTGCAT-
TTATTACGTTTCTTTCTCCACGAGTATTGGAATAGTCT
TATTACTCCAAAGAAACATATTATCCTTTTTTCAAAG
GTAATCCAAGATTATTCTTGTTCTATATAATTCTCAT
ATATGTGAATACGAATCCATCTTCTTTTTCTCCGTAA
TCAATCTTCTCATTTACGGTCAACATCTTCTGGAATCT
TTTTTGAGCGAATCTATTTCTATGTAAAAATAGAACAT
TTTGCCAAAGTCTTCTTTGATAATGATTTTCAGTGTAT
CCTATGGTTCTTCAAAGATCCTTTTCATGCATTATGTTA
GATATCAAGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAGATACG
CCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCTTGTTAC
TTTATGGCAATATCATTTTTATGCGTGGTTTCAACCAG
GAAGGATCGATATAAAACCAATTATGCAAGTATTCTCTT
GACTTTTTGGGCTATCGTTCAAGCGTACGACTAAATTC
TTCAGTGGTGCGAAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTT
TAATAAATAATGCTATGAAGAAGTTCGAGACAATAGTT
CCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGTCTAAAGCGAA
TTTTTGTAACACATTAGGGCATCCCATTAGTAAACCGA
CCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTATCGACCGT
TTTTTGCGTATATGCAGAAATCTTCTCATTATCACAG

TGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAGTAAAT
AT

>Sekuen *S. polyanthum_134_matK_contig*

TGGTTCAAACCCTTCGCTACTGGGTGAAAGATGCCTCT
TCTTTGCAT-

TTATTACGTTTCTTTCTCCACGAGTATTGGAATAGTCT
TATTACTCCAAAGAAACATATTATCCTTTTTTCAAAG
GTAATCCAAGATTATTCTTGTTCCATATAATTCTCAT
ATATGTGAATACGAATCCATCTTTCTTTTCTCCGTAA
TCAATCTTCTCATTTACGGTCAACATCTTCTGGAATCT
TTTTTGAGCGAATCTATTTCTATGTAAAAATAGAACAT
TTTGCCAAAGTCTTCTTTGATAATGATTTTCAGTGTAT
CCTATGGTTCTTCAAAGATCCTTTTCATGCATTATGTTA
GATATCAAGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAGATACG
CCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCTTGTTAC
TTTATGGCAATATCATTTTTATGCGTGGTTTCAACCAG
GAAGGATCGATATAAACCAATTATGCAAGTATTCTCTT
GACTTTTTGGGCTATCGTTCAAGCGTACGACTAAATTC
TTCAGTGGTGCGAAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTTT
TAATAAATAATGCTATGAAGAAGTTCGAGACAATAGTT
CCAATTATTCTCTGATTGGATCATTGTCTAAAGCGAA
TTTTTGTAACACATTAGGGCATCCATTAGTAAACCGA
CCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTATCGACCGT
TTTTTGCGTATATGCAGAAATCTTCTCATTATCACAG
TGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAGTAAAT
ATATACTTCGACTTTCTTGTGTTAAACTT

>Sekuen *S. polyanthum_NKF_matK*

NTGCCTCTTCTTTGCATTTATTACGTTTCTTTCTCCAC
GAGTATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAAGATAT
TACCCTTTTTTCAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGT
TCCTATATAATTCTCATATATGTGAATACGAATCCATC

TTTCTTTTTCTCCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTC
AACATCTTCTGGAATCTTTTTTGAGCGAATCTATTTCT
ATGTAAAAATAGAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGAT
AATGATTTTCAGTGCATCCTATGGTTCTTCAAAGATCC
TTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTC
TGGCTTCAAAAGATACGCCTCTTCTGATGAATAAATGG
AAATATTACCTTGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTTA
TGC GTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAACCAAT
TATGCAAGTATTCTCTTGACTTTTTGGGCTATCGTTCA
AGCGTAGGACTAAATTCTTCAAGTGGTACGAAGTCAAAT
GCTAGAAAATTCATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGA
AGTTTCGAGACAATAGTTCCAATTATTCTCTGATTGGA
TCATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTAACACATTAGGGCA
TCCCATTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTTCATCAGATT
CTGATATTATCGACCGTTTTTTTGC GTATATGCAGAAAT
CTTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAGAG
TTTATATCGAGTAAAATATATACTTCGACTTTCTTG TG
TTAAAACTTTG

>Sekuen *S. polyanthum*_NKR_matK

GGAATCTTGGTTCAAACCCCTTCGCTACTGGGTGAAAGA
TGCTCTTCTTTGCATTTATTACGTTTCTTCTCCACG
AGTATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAAGATATT
ACCCTTTTTTCAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGTT
CCTATATAATTCTCATATATGTGAATACGAATCCATCT
TTCTTTTTTCTCCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTCA
ACATCTTCTGGAATCTTTTTTGAGCGAATCTATTTCTA
TGTA AAAATAGAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGATA
ATGATTTTCAGTGCATCCTATGGTTCTTCAAAGATCCT
TTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTCT
GGCTTCAAAAGATACGCCTCTTCTGATGAATAAATGGA
AATATTACCTTGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTTAT
GCGTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAACCAATT
ATGCAAGTATTCTCTTGACTTTTTTGGGCTATCGTTCAA

GCGTAGGACTAAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATG
CTAGAAAATTCAATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAA
GTTTCGAGACAATAGTTCCAATTATTCCCTCTGATTGGAT
CATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTAACACATTAGGGCAT
CCCATTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTC
TGATATTATCGACCGTTTTTTGCGTATATGCAGAAATC
TTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAAGAGT
TTATATCGAGTAAAATATATA

>Sekuen *S. polyanthum*_NK_matK_contig

GGAATCTTGGTTCAAACCCCTTCGCTACTGGGTGAAAGA
TGCCCTCTTCTTTGCATTTATTACGTTTCTTCTCCACG
AGTATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAAGATATT
ACCCTTTTTTCAAAGGTAATCCAAGATTATTCTTGTT
CCTATATAATTCTCATATATGTGAATACGAATCCATCT
TTCTTTTTTCTCCGTAATCAATCTTCTCATTTACGGTCA
ACATCTTCTGGAATCTTTTTTGAGCGAATCTATTTCTA
TGTA AAAATAGAACATTTTGCCAAAGTCTTCTTTGATA
ATGATTTTTCAGTGCATCCTATGGTTCTTCAAAGATCCT
TTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCAATTCT
GGCTTCAAAGATACGCCTCTTCTGATGAATAAATGGA
AATATTACCTTGTTACTTTATGGCAATATCATTTTTAT
GCGTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAACCAATT
ATGCAAGTATTCTCTTGACTTTTTTGGGCTATCGTTCAA
GCGTAGGACTAAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATG
CTAGAAAATTCAATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAA
GTTTCGAGACAATAGTTCCAATTATTCCCTCTGATTGGAT
CATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTAACACATTAGGGCAT
CCCATTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTC
TGATATTATCGACCGTTTTTTGCGTATATGCAGAAATC
TTTCTCATTATCACAGTGGATCCTCAAAAAAAAAAAGAGT
TTATATCGAGTAAAATATATACTTCGACTTCTTGTGT
TAAAACTTTG

c. *S. polyanthum* penanda molekuler *psbA-trnH*

>Sekuen *S. polyanthum_141F_psbA-trnH*

TGCTGTCGAGC-

TCCATCTACAAATGGATAAGACTTTGGTCTTAGTATAA
GTGTAGGCGAGTTTTTGGATTGGAAAGGAAAGTAAAGGA
GCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAAATTGGTT
ATTGTTCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTACATAAGT
TTTTCTTTACTTGAACATAAGAAAAAGTTTTCTAGTCT
TAGGGATTGGTTTATGATTGCGTATCATACTTTTTTTT
CCTTAGATATGAATTTTTTCATTTCTATACATTCTTTTC
AACCCTTTGTAAGGCTTTGTGATATTATTATCTTCTAG
TTTTTTTTTCGAATAAAATAGAAAGGTTAGAATTTTAT
GCTTCTTCTATCTCAAATGTTAAAAATTAACAATCGAA
ATGAAATATTTTCCATTATGAATTTTTTTTTTTTTTTT
TTAAAAAAATTTTTTTTTAAAAAAAAGGGAAAAAAA
AAAATTTAAATACTATTAATATTGGGGGGGGATGTACC
CAAG

>Sekuen *S. polyanthum_141R_psbA-trnH*

ATTTTTTTTAAACCTAGGTGGTGTGAAAGTCCATTTA
AAAAAGGAAAAAAATTTGGTTTTAATAAAAAGGTAGGG
GGGTTTTTGATTGGAAAGGAAAAAAAAGGGGGAAAAAA
CAAAATTTTTAAAAAAAATGAGTATTGTTTC
TTTATTTATTGTTTTTTTTTTTTAAAAAATTTTTTTTT
AATTGAAAAAAAATTTTTTAGTTTTAGGGGTT
GGGTTAAGAATGGGGATTAAAATTTTTTTTTCTTAAAA
AAGAAATTTTATTTTTAAAAATTTTTTTTAAACCTTT
GTAAGGGTTTGGGAAATTATTTTTTTTTTAGTTTTTTTT
TTGAAAAAAAAGGTTAGAATTTTATGGTTTTTTT
TTTTTTAAAGTTAAAAATAAAAATTGAAAAGAAAA
TTTTNCATTAAGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTAATAAG
ATATTATTTTAAATAAAAATGGAATAAAAATAAATATA
AATACTAGTAATAGTAGGGGCGGA-GTAGCCAAGGT

>Sekuen *S. polyanthum*_141_psbA-trnH_contig

ATTTTTTTTAAACCTAGGTGGTGTGAAAGTCCATTTA
AAAAAGGAAAAAAATTTGGTTTTTAATAAAAAGGTAGGG
GGGTTTTTGATTGGAAAGGAAAAAAAGGGGGAAAAAA
CAAAATTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAATGGGTATTGTTTC
TTTATTTATTGTTTTTTTTTTTTTAAAAAAATTTTTTTTT
AATTGAAAAAAAAAAAAAAAAATTTTTTAGTTTTAGGGGTT
GGGTTAAGAATGGGGATTAAATTTTTTTTTCTTAAAA
AAGAAATTTTTATTTTTTAAAAATTTTTTTTAAACCTTT
GTAAGGGTTTGGGAATTATTTTTTTTTTAGTTTTTTTT
TTGAAAAAAAAAAAAAGGTTAGAATTTTATGGTTTTTT
TTTTTTTAAAGTTAAAAATAAAAATTGAAAAGAAAA
TTTTNCATTAAGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTAATAAG
ATATTATTTTAAAATAAAATGGAATAAAAATAAATATA
AATACTAGTAATAGTAGGGGCGGA-GTAGCCAAGGT

>Sekuen *S. polyanthum*_134F_psbA-trnH

GAGCTTCCATCTACAAATGGATAAGACTTTCGTCTTAG
TATAAGTGTAGGCGAGTTTTTGATTGGAAAGGAAAGTA
AAGGAGCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAAAT
TGTTTATTGTTCCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTTACA
TAAGTTTTTCTTTACTTGAACATAAGAAAAATTTTTCT
AGTCTTAGGGACTGGTTTATGATTGTGTATCATACTTT
TTTTTTCCTTAGATATGAATTTTTTAATTTATATACATT
CTTTTCAACCCTTTGTAAGGCTTTGTGATATTATTATC
TTCTAGTTTTTTTTTTCGAATAAAATAAAAGGTTAAAA
TTTTTTCGAATTTTCTGCTTCTTCTATCTCATAAGTAAG
ATAAAAA-AATGTTA-AAAATTAACAA-
TCGAAATGAAATA---
TTTTCCATTATGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGG
GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTAAAAAAATAGGGGG
GGATGTACCCAAGGGGATCAGGGGG-

>Sekuen *S. polyanthum*_134R_psbA-trnH

GGTTAAAAATTCCTTTTAAACCTAGGGGGGGTGGAAAG
TCCATTTAAAAAAGGAAAAAAATTTTTTTTTTAATAAAA
AGGTAGGGGAGTTTTTGATTGGAAAGGAAAATAAAGGG
GAAAAAAACAAAAATTTTAAAAAAAAAAAAAAAAATGGGT
ATTGTTTCCTTATTTATTGGTTTTTTTTTTTAAAAAAAT
TTTTTTTTTAATTGAAAAAAAAAAAAATTTTTTTATTTT
TAGGGGATGGTTTAAAGATTGGGTATTAAAATTTTTTTT
TTCTTAAAAAAGAATTTTAAATTTAAAAAAATTTTTTT
TAACCTTTGTAAAGGTTTGGGAATTATTTTTTTTTTA
GTTTTTTTTTTGAAAAAAAAAGAAAGGTAGAATTTTT
TGAATTTTTTGTTTTTTTTTATTTCAAAAATAAGAAAA
AANAAAGTTANAAAATTAAAAAATTGAAAAAGAAAA
TTTTTCCATTATGAATTTTTTTTTTTTTTTTATTAAAT
GGAATAAAAAATAAATATAAATACTAGTAATAGTAGGG
CGGA-GAGCCAAGGNACGTCGGCCNNNC

>Sekuen *S. polyanthum*_134_psbA-trnH_contig

GGTTAAAAATTCCTTTTAAACCTAGGGGGGGTGGAGCT
TCCATCTACAAATGGATAAGACTTTCGTCTTAGTATAA
GTGTAGGCGAGTTTTTGATTGGAAAGGAAAGTAAAGGA
GCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAAATTGGTT
ATTGTTCCCTTATTTATTGCTCTTTTCTTTACATAAGT
TTTTCTTTACTTGAACATAAGAAAAATTTTCTAGTCT
TAGGGACTGGTTTATGATTGTGTATCATACTTTTTTTT
TCCTTAGATATGAATTTTTTAATTTATATACATTCTTTT
CAACCTTTGTAAAGCTTTGTGATATTATTATCTTCTA
GTTTTTTTTTTCGAATAAAAAATAAAGGTAAAATTTTT
CGAATTTTCTGCTTCTTCTATCTCATAAGTAAGATAAA
AA-AATGTTA-AAAATTAACAA-TCGAAATGAAATA--
-
TTTTCCATTATGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGG
GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATAAAGGAGG
GGATGTACCCAAGGGGATCAGGGGGNC

>Sekuen *S. polyanthum* _NKF_psbA-trnH

CTGCTGTCGAGCTCCATCTACAAATGGATAAGACTTTG
GTCTTAGTATAAGTGTAGGCGAGTTTTTGATTGGAAAG
GAAAGGAGCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAA
ATTGGTTATTGTTCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTTA
CTTGAACATAAGAAAAAGTTTTCTAGTCTTAGGGATTG
GTTTATGATTGCGTATCATACTTTTTTTTTTCCTTAAA
TATGAATTTTTTCATTTATCTACATTCTTTTCACTCTT
TGTAAGGCTTTGTGATATTATTATCTTCTAGTTTTTTT
TTTTCAAATAAAATAAAAAGGTTAAAATTTTCTGCTTC
TTCTATCTCATAAGTAAAAAAAAAAAAATGTTCAAATTT
CCCAATTGAAATGAAATATTTTCCATTATAAATTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTTTAATTTTTTAAAAAAAAAAAAAGGG
AAAAAAAAAAAAATTAAAAATTTTTTAATTTGGGGGGGG
GGGTTCCCCAGGGGAACCAGGGGGGGGGTTGGGAAACC
CCCCCCCCCGGGCCAACACTCTTTTTTTTTTTTAAAAAA
AAAAAAAGTAAAAAAAAAAATATAAAAAAACTCNCACA
GAGGGAAAAAAAAAAGGGATATAAAAAAAACTTATT
TCTAAAAAAAAAAAAAGTGAGTGACGCACGCATATACCT
ATCTCTCACAGAAAAAACACTTTTTTTTTTTTATATGAG
TAAAAAAGAGAGCTATATATAGAGGCA

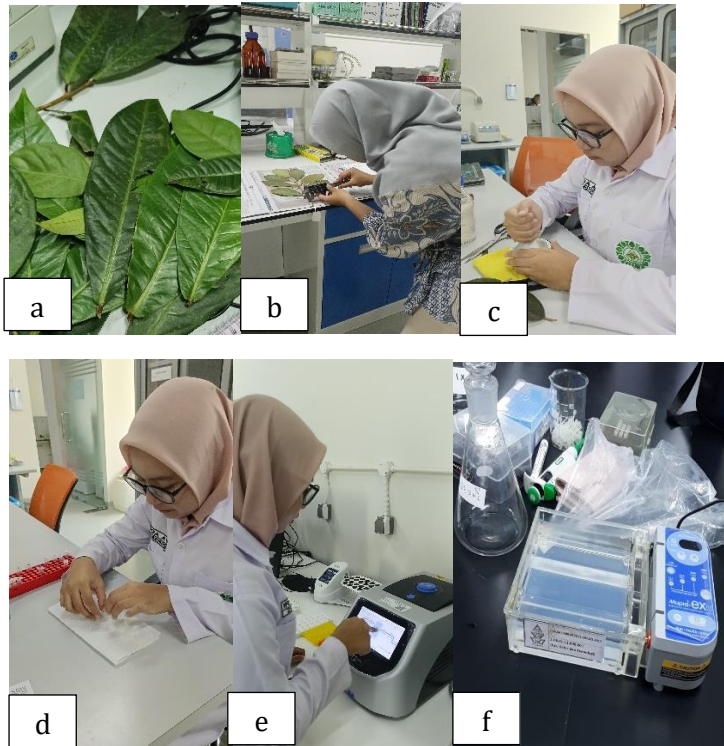
>Sekuen *S. polyanthum* _NKR_psbA-trnH

GAAGCCCCCTTTCAAAAGGGAAAAAATTTTGTTTTTTT
TAAAAGGGGGGGGGGGTTTTTTTTGGGAAAAAAAGGG
CCAAACCCCCCCCCCTTAAAAAAAAAAAAAAGGGGT
TTGGTCCCCTTTTTAATGGCTTTTTTTTTTTACGAAAA
AAAAAAAAAATTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGGGTTT-
TAAAGGGGGGTTCAACTTTTTTTTTTCCCTAAAAAGA
AATTTTCAATTTTTTACCATTTTTTTCAATTTTTTGAA
GGGGTTGGGGAAATTTTTTTTTTTAGGTTTTTTTTTTT
GAAAAAAAAAAAAAGGGTAAAAATTTTGGTTTTTTTTT

TTTCCAAAGTAAGAAAAAAAAAATTTCAAATTCCTCA
ATGAAAAAAAAAATTTTTCCCCTAAGAAATTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTAATATTATTAAAAAAAATGGAATAA
AAATAAATATAAATACTAGTAATAGTAGGGCGGATGT
AGCCAAGACGTCACCTGA-----

>Sekeun *S. polyanthum*_NK_psbA-trnH_contig
CTGCTGTCGAGCTCCATCTACAAATGGATAAGACTTTG
GTCTTAGTATAAGTGTAGGCGAGTTTTTGATTGGAAAG
GAAAGGAGCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAA
ATTGGTTATTGTTCCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTTA
CTTGAACATAAGAAAAAGTTTTCTAGTCTTAGGGATTG
GTTTATGATTGCGTATCATACTTTTTTTTTTTCCTTAAA
TATGAATTTTTCATTTATCTACATTCTTTTCAACTCTT
TGTAAGGCTTTGTGATATTATTATCTTCTAGTTTTTTT
TTTTCAAATAAAATAAAAAGGTTAAAATTTTCTGCTTC
TTCTATCTCATAAGTAAAAAAAAAAAAATGTTCAAATTT
CCCAATTGAAATGAAATATTTTCCATTATAAATTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTAAATTTTTTAAAAAAAAAAAAAGGG
AAAAAAAAAAAAATTAAAAATTTTTTAAATTTGGGGGGGG
GGGTTCCCCAGGGGAACCAGGGGGGGGGTTGGGAAACC
CCCCCCCCCGGGCCAACACTCTTTTTTTTTTTTAAAAA
AAAAAAGTAAAAAAAAAATATAAAAAAACTCNCACA
GAGGGAAAAAAAAAAGGGATATAAAAAAAACTTATT
TCTAAAAAAAAAAAAAGTGAGTGACGCACGCATATACCT
ATCTCTCACAGAAAAAACACTTTTTTTTTTTTATATGAG
TAAAAAAGAGAGCTATATATAGAGGCA

Lampiran 2. Dokumentasi penelitian



Keterangan: (a) sampel *S. polyanthum* (b) pengamatan sampel (c) penggerusan sampel (d) ekstraksi DNA sampel (e) proses PCR (f) proses elektroforesis

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Athiva Aztiana
2. Tempat & Tgl. Lahir : Brebes, 21 November 2003
3. Alamat Rumah : Jl. Tirta Husada Paguyangan, Kec. Paguyangan, Kab. Brebes
4. E-mail : athiva21@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. TK. & KB Masyitoh Paguyangan
2. SD Negeri 1 Paguyangan
3. SMP Negeri 1 Bumiayu
4. SMA Negeri 1 Bumiayu