

**IDENTIFIKASI *Durio* sp. KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR
MENGUNAKAN MARKA *INTERNAL TRANSCRIBED
SPACER***

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Teknologi**



Oleh:

**NUR FADILATUN NIKMAH
NIM: 2108016061**

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

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Nur Fadilatun Nikmah

NIM : 2108016061

Program studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

IDENTIFIKASI *Durio* sp. KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR

MENGGUNAKAN MARKA *INTERNAL TRANSCRIBED*

SPACER

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

Semarang, 17 Februari 2025


Nur Fadilatun Nikmah
NIM: 2108016061



KEMENTERIAN AGAMA
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 : IDENTIFIKASI *Durio* sp. KOLEKSI KEBUN
RAYA BOGOR MENGGUNAKAN MARKA
INTERNAL TRANSCRIBED SPACER

Penulis : Nur Fadilatun Nikmah

NIM : 2108016061

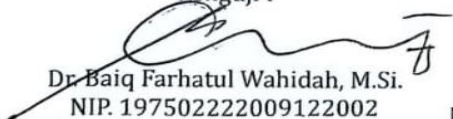
Program Studi : Biologi

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 Pendidikan Biologi.

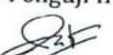
Semarang, 24 April 2025

Dewan Penguji

Penguji I


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

Penguji II


Dr. Mahat Magandhi, M.Si.
NIP. 198308082010121001

Penguji III


Dian Triastari Armanda, M.Si.
NIP. 198312212011012004
Pembimbing I

Penguji IV


Asri Febriana, M.Si.
NIP. 198902012019032015
Pembimbing II


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


Dr. Mahat Magandhi, M.Si.
NIP. 198308082010121001

NOTA DINAS

Semarang, 17 Februari 2025

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

Assalamu'alaikum wr. wb.

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

Judul : **Identifikasi *Durio* sp. Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan Marka *Internal Transcribed Spacer***

Penulis : Nur Fadilatun Nikmah

NIM : 2108016061

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang *munaqasyah*.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing I



Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M. Si.

NIP. 197502222009122002

NOTA DINAS

Semarang, 17 Februari 2025

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

Assalamu'alaikum wr. wb.

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

Judul : **Identifikasi *Durio* sp. Koleksi Kebun
Raya Bogor Menggunakan Marka
*Internal Transcribed Spacer***

Penulis : Nur Fadilatun Nikmah

NIM : 2108016061

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang *munaqosyah*

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing II



Dr. Mahat Magandhi, M. Si.

NIP.19830808201012001

MOTTO

“Tidak perlu menjelaskan tentang dirimu kepada
siapapun, karena orang yang menyukaimu tidak butuh itu
dan yang membencimu tidak percaya itu”

-Ali bin Abi Thalib

ABSTRAK

Durio merupakan salah satu genus dalam famili Malvaceae sebagai tumbuhan tropis asli Indonesia. Persebaran *Durio* di Indonesia diantaranya 19 jenis di Kalimantan, 14 jenis di Malaya, 7 jenis di Sumatra, dan 1 jenis masing-masing di Jawa, Bali, Sulawesi, dan Maluku. Kebun Raya Bogor sebagai lembaga konservasi *ex-situ* berperan melestarikan keanekaragaman tanaman serta melindungi dari ancaman kepunahan. Identifikasi molekuler genus *Durio* penting dilakukan karena kurangnya kelengkapan karakter morfologi, hal ini berhubungan dengan umur fisiologis tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Durio* sp. koleksi KRB menggunakan metode DNA *barcoding*. *Internal Transcribed Spacer* (ITS) adalah gen penanda pada tanaman yang mampu mengidentifikasi hingga tingkat spesies. Analisis melibatkan 3 sampel *Durio* yaitu XIX.F.88, XVI.H.74, dan XVI.H.70. Model parameter Kimura-2 dan metode *Maximum likelihood* digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik. Hasil analisis menunjukkan sampel XIX.F.88 spesies *D. zibethinus*, sampel XVI.H.74 spesies *D. graveolens* dan hubungan kekerabatan dengan *D. dulcis*, sampel XVI.H.70 spesies *D. lanceolatus* dan hubungan kekerabatan dengan *D. acutifolius*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi sumber referensi dan data pendukung.

Kata Kunci: DNA *barcoding*, *Durio*, filogenetik, kekerabatan

ABSTRACT

Durio is a genus within the family Malvaceae and is a native tropical plant of Indonesia. The distribution of *Durio* in Indonesia includes 19 species in Borneo, 14 species in Malaya, 7 species in Sumatra, and 1 species each in Java, Bali, Sulawesi, and Maluku. Bogor Botanical Gardens, as an ex-situ conservation institution, plays a role in preserving plant diversity and protecting it from extinction. Molecular identification of the *Durio* genus is crucial due to the lack of complete morphological characteristics, which is related to the plant's physiological age. This study aims to identify *Durio* sp. from the Bogor Botanical Gardens collection using the DNA barcoding method. The Internal Transcribed Spacer (ITS) is a genetic marker in plants capable of species-level identification. The analysis involved three *Durio* samples: XIX.F.88, XVI.H.74, and XVI.H.70. The Kimura-2 parameter model and the Maximum Likelihood method were used to reconstruct the phylogenetic tree. The analysis results showed that sample XIX.F.88 belongs to *D. zibethinus*, sample XVI.H.74 belongs to *D. graveolens* and shares a phylogenetic relationship with *D. dulcis*, while sample XVI.H.70 belongs to *D. lanceolatus* and shares a phylogenetic relationship with *D. acutifolius*. It is expected that the results of this study can serve as a reference source and supporting data.

Keywords: DNA barcoding, *Durio*, phylogenetics, relatedness

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan skripsi ini merujuk pada pedoman transliterasi huruf Arab-Latin SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama serta Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158 Tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

Huruf Arab	Huruf Latin	Huruf Arab	Huruf Latin	Huruf Arab	Huruf Latin
ا	A	ر	R	ف	F
ب	B	ز	Z	ق	Q
ت	T	س	S	ك	K
ث	s\	ش	Sy	ل	L
ج	J	ص	s}	م	M
ح	H}	ض	d}	ن	N
خ	Kh	ط	t}	و	W
د	D	ظ	z}	ه	H
ذ	z\	ع	'	ء	'
		غ	G	ي	Y

Bacaan Maad:

a > = a panjang

i > = i panjang

u > = u panjang

Bacaan Diftong:

au = ° او

ai = ° اي

I = ° اي

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Identifikasi *Durio* sp. Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan Marka *Internal Transcribed Spacer*”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk kelulusan di Prodi Biologi UIN Walisongo Semarang.

Shalawat serta salam senantiasa penulis panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan dan rahmat bagi alam semesta serta umatnya untuk belajar mencari dan mengamalkan ilmu pengetahuan yang diperoleh. Penulis menyadari bahwa dalam menyusun naskah skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan arahan dari berbagai pihak dalam memberikan bimbingan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis pada kesempatan ini menyampaikan dengan penuh rasa hormat mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan ketenangan dan petunjuknya, sehingga penulis dapat merampungkan skripsi ini dengan baik;
2. Kedua orang tua dan kakak saya yang telah memberikan dukungan secara material maupun spiritual.
3. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
4. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
5. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech., selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang;
6. Ibu Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M. Si. dan Bapak Dr. Mahat Magandhi, M. Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan arahan dalam proses penelitian sampai terselesaikannya naskah skripsi dengan tepat waktu;
7. Ibu Asri Febriana, M. Si., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama masa perkuliahan;

8. Seluruh staff peneliti Laboratorium Molekuler Kebun Raya Bogor yang telah membantu dan memberikan arahan selama proses penelitian;
9. Sahabat terbaik saya Athiyyatun yang telah kebersamai dalam setiap proses perkuliahan dan memberikan dukungan mental;
10. Teman-teman seperjuangan Kerja Praktik (KP) BRIN Kebun Raya Bogor yang kebersamai selama proses penelitian;
11. Teman-teman seperjuangan kelas Biologi B angkatan 2021 yang telah berjuang bersama-sama dalam setiap proses pembelajaran selama masa perkuliahan;
12. Teman-teman Kos Putri Wisma Giri Asri yang telah kebersamai selama 7 semester dalam suka maupun duka;
13. Semua pihak yang telah membantu dalam proses perkuliahan, penelitian, dan penulisan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis tidak mampu memberikan balasan melainkan ucapan terima kasih serta doa semoga Allah SWT membalas kebaikan kepada semua pihak yang membantu. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis. Semoga skripsi ini dapat menambah wawasan dan pengetahuan khususnya dalam bidang molekuler tanaman.

Semarang, 17 Februari 2025

Penulis

Nur Fadilatun Nikmah
NIM. 2108016061

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN.....	Error! Bookmark not defined.ii
PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
NOTA DINAS.....	Error! Bookmark not defined.IV
NOTA DINAS.....	Error! Bookmark not defined.V
MOTTO.....	vi
ABSTRAK.....	vii
TRANSLITERASI ARAB-LATIN	viii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	12
C. Tujuan Penelitian	12
D. Manfaat Penelitian	12
BAB II LANDASAN PUSTAKA.....	14
A. Tinjauan Pustaka.....	14
1. Kebun Raya Bogor.....	14
2. <i>Durio</i>	18

3. Morfologi Tanaman	23
4. DNA <i>Barcoding</i>	25
5. <i>Internal Transcribed Spacer</i> (ITS).....	39
B. Hubungan Tumbuhan dengan Ayat Al Qur'an Error! Bookmark not defined.	
C. Kajian Penelitian Terdahulu	42
D. Kerangka Berpikir	50
BAB III METODE PENELITIAN.....	51
A. Tempat dan waktu Penelitian.....	51
B. Alat dan Bahan	52
C. Prosedur Kerja	54
1. Pengambilan Sampel.....	54
2. Pengamatan Morfologi.....	56
3. Pengamatan Molekuler	58
D. Alur Kerja	68
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	69
A. Deskripsi Hasil Penelitian.....	69
1. Identifikasi sampel sekuen ITS <i>Durio</i> sp.....	69
2. Analisis Filogenetik Antar Spesies	79
3. Karakterisasi Morfologi <i>Durio</i> sp.....	83
B. PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN	88
1. Identifikasi sampel sekuen ITS <i>Durio</i> sp.....	88
2. Analisis Filogenetik Antar Spesies	93
3. Karakterisasi Morfologi <i>Durio</i> sp.....	100

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	106
A. Simpulan.....	106
B. Saran	107
DAFTAR PUSTAKA.....	108
LAMPIRAN	120
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	128
A. Identitas Diri	128
B. Riwayat Pendidikan	128

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 BRIN Kebun Raya Bogor	18
Gambar 2. 2 <i>Durio</i> sp. A: D8, B: D9, dan C: D11	20
Gambar 2. 3 Wilayah Coding Tanaman	27
Gambar 2. 4 Polymerase Chain Reaction	33
Gambar 2. 5 Alat Elektroforesis	34
Gambar 2. 6 Proses Sequencing.....	37
Gambar 2. 7 Region Internal Transcribed Spacer	41
Gambar 3. 1 Peta lokasi penelitian	56
Gambar 3. 2 Amplifikasi primer ITS	63
Gambar 3. 3 Alur kerja penelitian.....	68
Gambar 4. 1 Hasil visualisasi produk PCR.....	69
Gambar 4. 2 Elektroforegram sekuen sampel A: D8, B: D9, dan D11.....	71
Gambar 4. 3 Hasil penyejajaran D8 dengan <i>D. zibethinus</i> (XM022880025.1).....	77
Gambar 4. 4 Hasil penyejajaran D9 dengan <i>D. graveolens</i> (OR631857.1).....	78
Gambar 4. 5 Hasil penyejajaran D11 dengan <i>D.</i> <i>lanceolatus</i> (OR631859.1).....	78
Gambar 4. 7 A: D8, B: D9, dan C: D11.....	85

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Penelitian Terdahulu	43
Tabel 3. 1	Data Sampel <i>Durio</i> Kebun Raya Bogor.....	54
Tabel 3. 2	Karakteristik Morfologi Daun <i>Durio</i> sp.....	57
Tabel 4. 1	Hasil BLAST sampel D8	73
Tabel 4. 2	Hasil BLAST sampel D9	74
Tabel 4. 3	Hasil BLAST sampel D11.....	75
Tabel 4. 4	Data sekuen pohon filogenetik.....	79
Tabel 4. 5	Karakterisasi Morfologi <i>Durio</i>	86

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian.....	120
Lampiran 2. Parameter Morfologi Daun <i>Durio</i>	121
Lampiran 3. FASTA Sampel ITS <i>Durio</i>	126

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara megabiodiversitas yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Menurut *National Geographic Indonesia* (2019), Indonesia peringkat kedua setelah Brazil untuk keanekaragaman hayati daratan. Tahun 2017, ditemukan sekitar 31.750 jenis tumbuhan dan 25.000 diantaranya merupakan tumbuhan berbunga yang ada di Indonesia. Keanekaragaman hayati jenis buah-buahan asli Indonesia cukup tinggi dan banyak yang belum dimanfaatkan secara berkelanjutan. *Durio* di Dunia terdapat 29 jenis, di Indonesia ditemukan 20 jenis *Durio* diantaranya terdapat 19 jenis di Kalimantan, 14 jenis di Malaya, dan 7 jenis di Sumatra (POWO, 2024).

Durio merupakan salah satu genus dari famili Malvaceae. Berbagai jenis *Durio* masih banyak yang ditemukan tumbuh secara liar di hutan-hutan primer maupun sekunder dan kebun-

kebun masyarakat, terutama di Kalimantan dan Sumatra (Krismawati, 2016). Kalimantan mencakup berbagai keanekaragaman jenis *Durio* menandakan daerah tersebut sebagai sumber genetika dan ekosistemnya menjadikan pulau tersebut pusat persebaran. *Durio* dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis dengan ketinggian berkisar antara 50-600 m di atas permukaan laut (dpl). *Durio* memiliki kemampuan tumbuh baik di daratan rendah dan beberapa jenis mempunyai kemampuan tumbuh di daratan tinggi seperti: *D. lanceolatus*, *D. lowianus*, *D. oblongus*, dan *D. testudinarum* (Priyanti, 2012).

Salah satu jenis *Durio* yang dapat dikonsumsi dan sangat terkenal yaitu Durian (*Durio zibethinus* L.). Durian merupakan tumbuhan buah tropis asli dari Indonesia yang dikenal dengan *The King of Fruit* (Feng *et al.*, 2016). Durian disebut sebagai Raja Buah karena musim panen durian menandai musim panen buah-buahan lainnya (Nugroho *et al.*, 2020). Durian memiliki rasa dan aroma yang khas serta digemari kalangan masyarakat (Najira *et al.*, 2020). Rasa buah yang

manis pahit dan aromanya yang harum membuat daya tarik tersendiri bagi pencinta durian.

Kebun Raya Bogor sebagai lembaga konservasi *ex-situ* memiliki peranan penting untuk melindungi berbagai jenis tumbuhan tropis asli Indonesia. Kebun Raya Bogor berada di bawah pengelolaan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). *Durio* di Indonesia terancam keanekaragamannya karena beberapa faktor yang dapat mempengaruhinya seperti cuaca ekstrem, alih fungsi hutan, dan kesalahan ketika proses pemanenan yang menyebabkan beberapa jenis *Durio* terancam punah bahkan langka akibat kurangnya sumber plasma nutfah. Oleh karena itu, lembaga konservasi sangat dibutuhkan untuk melestarikan dan melindungi keanekaragaman genetik dari ancaman kepunahan. Kegiatan eksplorasi dan identifikasi merupakan ujung tombak utama konservasi.

Eksplorasi adalah suatu kegiatan yang bertujuan mengumpulkan dan mengoleksi sumber keragaman genetik yang tersedia (Suryani & Owbel, 2020). Spesies *Durio* koleksi Kebun Raya Bogor

diperoleh dari kegiatan eksplorasi, terutama di Sumatra dan Kalimantan. Kebun Raya Bogor telah melaksanakan program pemanfaatan dan pengembangan tanaman yang berpotensi buah dari berbagai daerah di Indonesia dalam rangka menambah koleksi tanamannya. Program ini bertujuan untuk mengoleksi berbagai material koleksi tanaman buah, termasuk *Durio* yang akan dikonservasi secara *ex-situ* di Kebun Raya Bogor. Kebun Raya Bogor telah mengoleksi 9 jenis dari 20 spesies *Durio* di Indonesia (Aprilianti, 2019).

Identifikasi merupakan suatu kegiatan menganalisis semua karakter yang dimiliki oleh keragaman genetik spesies sebagai pangkalan data sebelum memulai rencana pemuliaan (Ferita *et al.*, 2015). Pemuliaan tanaman adalah proses pengembangan untuk menghasilkan varietas tanaman baru dengan mengubah susunan genetik, sehingga memiliki karakter yang diinginkan (Koryati *et al.*, 2022). Kebun Raya Bogor sebagai lembaga konservasi mengoleksi berbagai jenis tanaman sebagai sumber keragaman plasma nutfah dan mencegah dari kepunahan. Identifikasi

tanaman dapat dilakukan dengan beberapa pendekatan seperti morfologi, anatomi, sitologi, dan molekuler. Identifikasi morfologi membutuhkan kelengkapan data berupa organ generatif dan organ vegetatif tanaman, sedangkan koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor belum cukup umur untuk tanaman tersebut berbunga dan berbuah.

Identifikasi spesies melalui karakteristik morfologi memiliki keterbatasan karena dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal dari perubahan lingkungan dan interaksi antar genetik. Karakter morfologi tanaman merupakan hasil interaksi antara lingkungan dengan genotipe yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi tanaman. Identifikasi genus *Durio* menggunakan metode konvensional dengan morfologi relatif sulit dan memakan waktu yang lama (Mudiana & Ariyanti, 2020). Salah satu kelemahan sistem ini adalah identifikasi tanaman hanya bisa diterapkan untuk tanaman dewasa sehingga memerlukan waktu yang lama dalam pengambilan sampel, selain itu pengamatan

morfologi membutuhkan seorang pakar taksonomi. Kondisi ini disebabkan kurangnya pengetahuan mengenai tanaman terkait karakter bunga dan buah yang dibutuhkan dalam proses identifikasi (Mudiana & Ariyanti, 2020).

Identifikasi molekuler melalui DNA *Barcoding* merupakan metode alternatif untuk mengidentifikasi spesies tanaman. DNA *barcoding* adalah menggunakan potongan sekuen DNA pendek untuk mengidentifikasi spesies dan menentukan hubungan kekerabatan antar spesies melalui konstruksi pohon filogenetik (Rohimah *et al.* 2018). DNA *barcode* merupakan identifikasi potongan sekuen DNA pendek yang dapat menunjukkan spesies atau variasi genetik dalam suatu spesies (DeSalle & Goldstein, 2019). Urutan DNA *barcode* memiliki ukuran sekuen pendek (mudah diamplifikasi), variabilitas genetik tinggi pada tingkat spesies, dan menggunakan primer universal untuk amplifikasi PCR (Kress & Erickson, 2007). Kelebihan menggunakan metode DNA *Barcoding* memerlukan sampel sedikit, dilakukan di semua jaringan, menggunakan sampel segar atau

awetan, dan identifikasi tanaman secara cepat, akurat, dan tidak ambigu. DNA *Barcoding* mampu mendokumentasi keragaman grup-grup yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya, serta mengungkapkan varietas baru pada spesies-spesies yang sebelumnya digolongkan satu spesies (Virgilio *et al.*, 2012). Kelemahan menggunakan DNA *barcode* pada tanaman adalah belum ditemukannya lokus DNA *barcode* universal yang cocok untuk semua tanaman, meskipun beberapa lokus terbukti efektif untuk tumbuhan tertentu. Kombinasi lokus sekuen DNA *barcoding* perlu dilakukan untuk hasil yang maksimal. Kombinasi yang sering digunakan adalah *rbcL* dan *matK*. DNA *barcode* pada tanaman masih perlu dikaji dan dikembangkan lebih lanjut dikarenakan belum ditemukan lokus tunggal yang dapat dilakukan pada setiap taksa (Shneyer & Rodionov, 2019).

Internal Transcribed Spacer (ITS) pengode ribosom subunit besar dan ribosom subunit kecil (18S, 5,8S, dan 26S) yang dipisahkan oleh ITS1 dan ITS2 sebagai DNA *barcode* tanaman. Sekuen ITS sebagai DNA *barcode* memiliki tingkat keberhasilan

tinggi pada amplifikasi DNA tanaman berbunga (Kress & Erickson, 2007). Wilayah ITS dari genom inti sering digunakan pada tanaman karena memiliki kemampuan mudah diamplifikasi dan memiliki derajat variasi tinggi bahkan antar spesies (Hollingsworth *et al.*, 2011). Khusus ITS2 mendapat pengakuan dalam DNA *Barcoding* karena memiliki kemampuan membedakan spesies hingga tingkat keberhasilan 92,7% pada tanaman (Chen *et al.*, 2010).

Gen penanda kloroplastik *DNA Barcoding* seperti *rbcL* dan *matK* memiliki karakteristik tingkat mutasi dan evolusi rendah, sehingga tingkat kesamaan antar spesies cukup tinggi. Genom berukuran kecil hal ini menyebabkan banyak karakter dalam kajian filogenetik, struktur yang stabil, dan tidak mengalami rekombinasi serta diturunkan secara uniparental (Basith, 2015). Terdapat beberapa syarat dalam memilih penanda DNA yang sesuai yaitu, variabilitas tinggi antar spesies dan rendahnya variasi intraspesifik kurang dari 2% (Szczeny *et al.*, 2018). Gen penanda kloroplas bersifat universal, sehingga dapat

digunakan pada tingkat taksa yang berbeda serta keberhasilan amplifikasi DNA yang tinggi. Penanda *barcode* yang baik tingkat mutasinya rendah (Hollingsworth, 2011).

DNA *Barcoding* wilayah ITS dipilih sebagai genom penanda pada genus *Durio* karena menunjukkan variasi nukleotida yang tinggi dibandingkan genom kloroplas (Magandhi *et al.*, 2024). Wilayah ITS menunjukkan laju evolusi yang cepat daripada genom kloroplas. Laju evolusi genom kloroplas dipengaruhi faktor eksternal dan internal, termasuk pewarisan sifat, laju mutasi, dan tekanan evolusi. Variasi nukleotida yang tinggi di wilayah ITS dapat disebabkan oleh frekuensi persilangan yang tinggi selama pembelahan sel dan proses rekombinasi (Cheng *et al.*, 2016). Sedangkan, pewarisan genom kloroplas pada tanaman melalui mekanisme maternal, terkait dengan fotosintesis dan adaptasi perubahan lingkungan (Camus *et al.*, 2022). DNA *Barcoding* genom kloroplas digunakan untuk mempelajari proses evolusi tanaman dan hubungan filogenetik antar taksa tanaman. Sementara itu, DNA *Barcoding*

genom inti wilayah ITS untuk identifikasi tingkat spesies, mempelajari keanekaragaman genetik, dan melakukan analisis filogenetik tingkat interspesies maupun intraspesies (Matra *et al.*, 2021). Ketersediaan *database* sekuen penanda wilayah ITS yang lebih besar di NCBI *GeneBank* menunjukkan penggunaan penanda ITS yang lebih umum daripada penanda lainnya.

Identifikasi tanaman berdasarkan morfologi sulit dilakukan, terutama untuk tanaman tropis seperti *Durio*. Keragaman morfologi spesies yang sama dapat bervariasi menurut usia dan kondisi perkembangan, sehingga tanaman yang berkerabat dekat sulit dibedakan secara morfologis. Pengembangan metode identifikasi tanaman menggunakan DNA *barcode* diharapkan dapat membantu dalam menentukan identitas tanaman, menemukan varietas baru dari spesies yang sama, dan mengurangi kesalahan selama proses identifikasi tanaman. DNA *barcoding* diharapkan dapat mengidentifikasi persamaan dan perbedaan antar spesies dari berbagai daerah penghasil *Durio* di Indonesia.

Penelitian ini memberikan informasi genetik berupa sekuen DNA *Barcoding* untuk membantu dalam mengidentifikasi spesies awal dan membantu KRB dalam mengelola unit registrasi tanaman hingga tingkat spesies. Penelitian dilakukan untuk mengidentifikasi *Durio* yang sulit diidentifikasi secara morfologi, sehingga identifikasi dilakukan dengan pendekatan molekuler. *Internal Transcribed Spacer* (ITS) adalah wilayah target DNA yang berasal dari genom inti (nukleus) yang banyak digunakan dalam taksonomi dan filogeni molekuler karena mudah diamplifikasi dan mempunyai derajat variasi tinggi bahkan antar spesies terkait erat (Hollingsworth *et al.*, 2011). Penelitian menggunakan pendekatan molekuler genus *Durio* yang telah dilakukan sebelumnya pada spesies *Durio macrantha* dengan sekuen *rbcL* dan ITS (Rusydina, 2023). Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi *Durio* sp. koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan DNA *barcoding* marka ITS untuk mengetahui hingga tingkat spesies, sehingga dapat memenuhi kelengkapan data dan dijadikan data acuan.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Bagaimana karakterisasi sekuen DNA pada wilayah ITS dari koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor?
2. Bagaimana hubungan filogenetik antar spesies koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini mempunyai tujuan sebagai berikut:

1. Mendeskripsikan karakterisasi sekuen DNA pada wilayah ITS dari koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor
2. Menggambarkan hubungan filogenetik antar spesies koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini hasilnya memiliki banyak manfaat dalam berbagai bidang keilmuan meliputi:

1. Teoritis

Penelitian ini secara umum berguna dalam perkembangan ilmu pengetahuan dalam

bidang biologi dengan menyediakan data molekuler yang dapat digunakan sebagai literatur atau referensi dalam bidang keilmuan genetika molekuler terkait dengan spesies dari genus *Durio* bagi penelitian selanjutnya.

2. Praktis

- a) Bagi penulis: menambah pengetahuan dan melatih keterampilan dalam identifikasi tumbuhan secara molekuler.
- b) Bagi masyarakat: memberikan informasi terkait dengan spesies *Durio* dari beberapa wilayah yang ada di Indonesia yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan.
- c) Bagi Universitas: sebagai upaya dalam berkontribusi dalam merealisasikan visi misi universitas.
- d) Bagi Kebun Raya Bogor: untuk konservasi dan mengidentifikasi tumbuhan secara molekuler untuk mendapatkan informasi yang akurat dalam menentukan spesies.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Kebun Raya Bogor

Kebun raya adalah kawasan konservasi *ex-situ* dengan koleksi tumbuhan terdokumentasi yang disusun berdasarkan pola klasifikasi taksonomi, bioregional, tematik, atau gabungan dari pola-pola tersebut untuk tujuan konservasi, penelitian, pendidikan, pariwisata, dan layanan lingkungan (Perpres 93/2011). Koleksi tumbuhan terdokumentasi berfungsi sebagai catatan asal usul koleksi tumbuhan mulai dari masuknya tumbuhan ke kebun raya dan berlanjut melalui adaptasi atau aklimatisasi, perkembangan di kebun, dan kematian, hal ini yang membedakan kebun raya dengan kawasan konservasi lainnya. Kebun Raya Bogor sebagai lembaga ilmiah tertua di Indonesia dan menjadi dasar dari sejumlah lembaga penelitian dibidang biologi. Beberapa cabang ilmu biologi dapat dikaji di Kebun Raya Bogor, seperti: identifikasi dan klasifikasi

tumbuhan, anatomi, morfologi, ekologi, sitologi, kultur jaringan, fenologi, dan genetika

Kebun Raya Bogor terletak di jantung kota Bogor, berada ditinggian antara 190 dan 330 meter di atas permukaan laut, dengan suhu rata-rata 26°C. Bogor berada di bawah kaki Gunung Salak dan Gunung Gede dengan curah hujan tinggi mencapai 4.812,20 mm per tahun. Penjajah Belanda dahulu memanfaatkan keunikan ini untuk menjadikan Bogor sebagai pusat penelitian zoologi dan botani dan masih berlanjut hingga saat ini. Kebun Raya Bogor (*'slands Planterusin te Buitenzorg*) sebagai karya manusia lampau masih beroperasi dan difungsikan hingga sekarang. Desain bangunan dan penanaman tanaman merupakan contoh rekayasa manusia masa lampau. Caspar Georg Karl Reinwardt mendirikan Kebun Raya Bogor pada tanggal 18 Mei 1817. Kebun Raya Bogor dibuat menjadi *Landscape* dengan merujuk pada model Kew Garden di Inggris. Kebun Raya Bogor memiliki tugas utama untuk menanam tumbuhan nusantara dan tumbuhan bernilai

ekonomis dari berbagai negara hal ini dibuktikan dengan didatangkan berbagai jenis tanaman seperti vanilla, karet, kelapa sawit, leci, singkong, dan lainnya (Sutrisna, 2020).

Kebun Raya Bogor adalah kebun raya tertua di Asia Tenggara, KRB menawarkan keragaman flora tropis dengan kecantikannya serta sebagai paru-paru kota Bogor. Kebun Raya Bogor memiliki luas sekitar 87 hektar dengan total koleksi mencapai 222 famili, 1.257 genus, dan 3.423 jenis tumbuhan dengan jumlah spesimen hidup mencapai 13.684 spesimen (Rachmadiyanto *et al.*, 2021). Lembaga konservasi *ex-situ* seperti Kebun Raya Bogor di bawah Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) sebagai tempat penelitian tanaman. Kebun Raya Bogor berperan penting dalam melindungi dan melestarikan keanekaragaman tumbuhan tropis yang ada diseluruh daerah di Indonesia. Kebun Raya Bogor dalam konservasi tanaman secara umum meliputi penyiapan bahan perumusan kebijakan konservasi *ex-situ*, pengembangan

kawasan konservasi *ex-situ* dan model konservasi tanaman langka, pelaksanaan penelitian konservasi dan pemanfaatan tanaman, reintroduksi dan pemulihan spesies tanaman tropis, serta pengembangan pendidikan lingkungan hidup.

Kebun Raya Bogor memiliki lima fungsi utama: konservasi, penelitian, pendidikan lingkungan, rekreasi, dan jasa lingkungan. Kebun raya berperan penting dalam konservasi dan penelitian karena merupakan tempat perlindungan terakhir bagi spesies tanaman langka dan terancam punah akibat penurunan populasinya di alam (Ashton, 1988). Konservasi didefinisikan sebagai tindakan manusia yang dilakukan untuk melestarikan atau melindungi sumber daya alam. Di Indonesia, konservasi keanekaragaman hayati dilakukan berdasarkan tiga prinsip: perlindungan, pelestarian, dan pemanfaatan berkelanjutan, serta diwujudkan melalui program kawasan konservasi *in-situ* (di dalam Kawasan) dan konservasi *ex-situ* (di luar

kawasan). Konservasi *ex-situ* merupakan suatu bentuk perlindungan spesies tumbuhan dengan cara pengumpulan jenis, pemeliharaan, dan dibudidayakan di luar habitat aslinya (Irsyam et al., 2021).



Gambar 2. 1 BRIN Kebun Raya Bogor

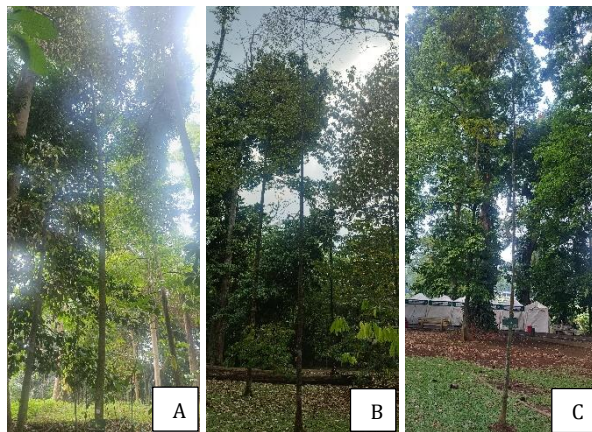
2. *Durio*

Durio merupakan salah satu genus dalam famili Malvaceae sebagai tumbuhan asli Asia Tenggara. Malvaceae merupakan famili taksonomi yang mencakup lebih dari 244 genus dan 2.300 spesies yang tersebar di wilayah tropis dan subtropis. Habitat famili Malvaceae meliputi hutan, padang rumput, dan wilayah pesisir. Famili Malvaceae merupakan suku

kapas-kapasan, memiliki karakteristik tumbuhan berkeping dua, habitus berupa semak, perdu, dan pohon. Bunga dari famili Malvaceae umumnya disebut bunga sempurna karena memiliki putik dan benang sari sebagai alat reproduksi (Masnadi, 2019).

Persebaran *Durio* sebagian besar di wilayah Asia Tenggara, terutama di Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Filipina. *Durio* di Indonesia banyak tersebar di pulau Kalimantan dan Sumatra. Hasil kajian koleksi herbarium Kebun Raya Bogor menunjukkan bahwa di Indonesia ada sedikitnya 20 jenis *Durio* diantaranya 19 jenis di Kalimantan, 7 jenis di Sumatra, dan 1 jenis di Jawa, Sulawesi, Bali, dan Maluku. Kebun Raya Bogor telah mengkoleksi 24 jenis *Durio* dengan 9 jenis telah diketahui jenisnya (Aprilianti, 2019). Berbagai jenis *Durio* yang ditemukan di Kebun Raya Bogor yaitu *Durio dulcis* Becc., *Durio grandiflorus* (Mast.) Kosterm & Soegeng, *Durio graveolens* Becc., *Durio kutejensis* (Hassk.) Becc., *Durio kutejensis* forma *Ochroleuchus*, *Durio kutejensis*

forma *luteus*, *Durio lanceolatus* Mast., *Durio macrantha* Kosterm., *Durio oxleyanus* Griff., *Durio testudinarius* Becc., dan *Durio zibethinus* L. (Aprilianti, 2019). Koleksi *Durio* sp. Kebun Raya Bogor didapatkan dari hasil kegiatan eksplorasi, terutama di Pulau Sumatra dan Kalimantan. *Durio* dari 27-30 jenis ditemukan yang dapat dikonsumsi hanya 9 jenis saja yaitu *Durio zibethinus*, *Durio kutejensis*, *Durio dulcis*, *Durio graveolens*, *Durio grandiflorus*, *Durio testudinarius*, *Durio oxleyanus*, *Durio lowianus*, dan *Durio mansonii* (Riupassa *et al.*, 2016).



Gambar 2. 2 *Durio* sp. A: D8 (XIX.F.88), B: D9 (XVI.H.74),
C: D11 (XVI.H.70)

Adapun klasifikasi *Durio* sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Malvales
Family : Malvaceae
Genus : *Durio* Adans. (GBIF, 2024)

Al-Quran memandang tumbuhan sebagai ciptaan Allah yang sangat berharga. Beberapa ayat dalam Al-Quran menyebutkan berbagai jenis tumbuhan buah. Berikut ayat Al-Quran yang merujuk pada berbagai jenis tumbuhan.

Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an surat An-Nahl (16) ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ
النَّمْرَةِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya:

Dengan (air hujan) Dia menumbuhkan bagimu tanaman-tanaman seperti zaitun, kurma, anggur, dan berbagai jenis buah-buahan. Sesungguhnya yang demikian itu merupakan tanda bagi kaum yang berpikir (Al Qur'an Kemenag).

Allah SWT menurunkan hujan untuk menumbuhkan berbagai tanaman yang dapat memenuhi kebutuhan hidup. Air hujan mendorong pertumbuhan pohon-pohon yang menghasilkan buah, seperti zaitun, kurma, anggur, dan buah pohon lainnya. Kenikmatan yang ditimbulkan oleh hujan merupakan tanda yang jelas akan kebesaran, keagungan, dan kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berpikir. Berbagai buah-buahan tumbuh agar manusia dapat merasakan kekuasaan-Nya yang tak terbatas. Allah SWT memiliki kemampuan untuk menumbuhkan berbagai tanaman dan menghasilkan buah-buahan dengan berbagai macam bentuk, warna, dan rasa. Tanaman yang menghasilkan bahan-bahan untuk memenuhi kebutuhannya sebagai berkah dari Allah, sekaligus bukti keesaan-Nya bagi orang-orang yang mengingkari-Nya (Tafsir Tahlili Kemenag RI, 2022).

3. Morfologi Tumbuhan

Morfologi tumbuhan adalah ilmu yang mempelajari bentuk fisik dan struktur bagian luar tubuh tumbuhan. Morfologi tumbuhan memiliki 4 aspek fungsi, yaitu deskripsi bentuk, morfogenesis, klasifikasi bentuk, dan hubungan antara bentuk dan fungsi tubuh tumbuhan (Tjitrosoepomo 1985). Morfologi tumbuhan digunakan sebagai aspek untuk menyelidiki dan membandingkan perbedaan atau persamaan karakteristik bentuk dan struktur luar tumbuhan di antara berbagai jenis tumbuhan (Kojong *et al.*, 2023).

Identifikasi tumbuhan dengan metode morfologi berdasarkan 5 bagian pokok tubuh tumbuhan yaitu akar, daun, batang, bunga, dan buah. Morfologi sering digunakan untuk memudahkan taksonomi tumbuhan. Secara khusus morfologi tumbuhan digunakan untuk mengamati dan mengukur bagian bentuk daun, tipe daun, tata letak daun, bentuk batang, arah tumbuh batang, percabangan batang, bentuk akar dan sistem perakaran (Sa'adah, 2015). Fokus utama dari

morfologi tumbuhan yaitu bentuk dan susunan luar tubuh yang mengalami diferensiasi.

Morfologi tumbuhan mengacu pada hubungan antara lingkungan dan genotip yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan tanaman. Fenotip merupakan ekspresi interaksi antara gen dan faktor lingkungan. Karakter morfologi dibagi menjadi dua yaitu, karakter morfologi kualitatif dan kuantitatif. Morfologi tumbuhan digunakan dalam pemahaman siklus hidup, ekologi, goeografis, penyebaran, evolusi, konservasi, dan deskripsi tumbuhan (Angreni & Agsen, 2021). Hasil karakterisasi struktur dan susunan morfologi tumbuhan dipengaruhi oleh faktor eksternal lingkungan yaitu nutrisi, perbedaan ketinggian tempat, tanah, suhu, air, kelembaban, intensitas sinar matahari, dan penyebaran spesies tumbuhan yang bervariasi dipengaruhi oleh perubahan geografis yang signifikan (Widiya *et al.*, 2019).

4. DNA *Barcoding*

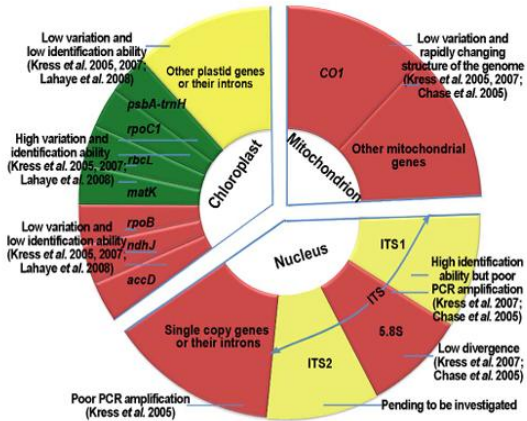
DNA *barcoding* merupakan metode identifikasi spesies yang sederhana menggunakan potongan sekuen DNA berukuran pendek dengan panjang berkisar antara 400-800 bp dari sebuah gen dalam genom. DNA *barcoding* menggunakan nukleotida berbeda yang terletak di lokus gen tertentu yang dapat dengan mudah digandakan dan dibedakan antar spesies (Maloukh *et al.*, 2017). Wilayah gen yang digunakan mempunyai informasi filogenetik yang cukup untuk menentukan spesies yang tidak diketahui dalam kelompok taksonomi yang sesuai dan wilayah gen harus dapat digandakan serta *sequencing* dengan mudah (Valentine *et al.*, 2008).

DNA *barcoding* merupakan metode identifikasi spesies sederhana yang menggunakan fragmen sekuen DNA pendek yang panjangnya berkisar antara 400 hingga 800 bp dari suatu gen dalam genom. DNA *barcoding* menggunakan nukleotida berbeda yang ditemukan di lokus gen tertentu yang mudah diamplifikasi dan dibedakan antar spesies (Maloukh *et al.*, 2017). Wilayah gen

yang digunakan memiliki informasi filogenetik yang cukup untuk menentukan spesies yang tidak diketahui dalam kelompok taksonomi yang sesuai, dan wilayah gen dapat diamplifikasi serta *sequensing* (Valentine *et al.*, 2008).

DNA *barcoding* merupakan teknik yang digunakan untuk mempercepat dan menyederhanakan identifikasi spesies dengan menggunakan fragmen gen tertentu (Bangol *et al.*, 2014). Teknik DNA *barcoding* biaya terjangkau dan memberikan hasil yang akurat (Zein & Prawira, 2013). DNA *barcoding* tidak terpengaruh oleh kondisi lingkungan, sehingga memungkinkan hasil yang akurat pada semua jaringan tanaman. Teknik DNA *barcoding* digunakan dalam bidang taksonomi dan filogenetik tumbuhan karena hasil identifikasi tumbuhan yang lebih akurat dibandingkan dengan identifikasi secara konvensional. Menurut (Kress & Erickson, 2007) terdapat 3 sekuen DNA *barcode* yaitu: DNA inti (nukleus), DNA kloroplas, dan DNA mitokondria. Karakteristik dari sekuen DNA *barcode* berbeda-beda DNA inti yaitu, ITS (18S-

26S) dan DNA kloroplas antara lain *ndhF*, *rbcl*, *atpB*, *matK*, dan *rpl16*.



Gambar 2.3 Wilayah Coding Tumbuhan
(Chen *et al.*, 2010)

Teknik DNA *barcoding* digunakan untuk memisahkan DNA murni dari partikel lain seperti lipid, protein, RNA, polisakarida, polifenol, dan zat lain menggunakan metode mekanik atau kimia. DNA *barcoding* pada tanaman dimulai dengan ekstraksi dan amplifikasi DNA dari gen genom kloroplas dan genom nukleus melalui *region barcode*. Sekuen DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan hubungan

kekerabatan antar spesies dengan memeriksa hasil pohon filogenetik (Rohimah et al., 2018). Sekuen DNA yang cocok untuk DNA *barcoding* memiliki karakteristik yaitu: ukuran sekuen pendek, variabilitas genetik yang tinggi pada tingkat spesies, dan menggunakan primer universal untuk amplifikasi PCR (Kress & Erickson, 2007). DNA *barcoding* memiliki keunggulan seperti, membutuhkan sampel sedikit, menunjukkan keragaman kelompok taksonomi yang belum diketahui atau yang belum pernah diidentifikasi, dan menentukan variasi baru pada spesies yang sebelumnya digolongkan pada satu spesies (Virgilio et al., 2012). Prinsip kerja DNA *barcoding* sebagai berikut:

a. Isolasi DNA

Deoxyribonucleic Acid adalah materi yang menyusun kromosom dan menyimpan informasi genetik dalam tubuh makhluk hidup. DNA adalah polimer berupa rantai panjang dari nukleotida. Nukleotida terdiri dari satu gugus fosfat, gula pentosa, dan basa nitrogen. Basa nitrogen DNA terdiri dari *Adenine* (A), *Guanine*

(G), *Thymin* (T), dan *Cytosine* (C). Isolasi DNA adalah tahap awal dalam rekayasa genetika dengan menggunakan kombinasi metode mekanik dan kimiawi tanpa merusak DNA. Prinsip dasar isolasi DNA adalah memecah dan mengekstraksi jaringan untuk membentuk ekstrak sel, yang kemudian dimurnikan untuk menghasilkan pelet sel yang mengandung DNA (Fatchiyah *et al.*, 2011). Isolasi DNA memiliki beberapa tahapan antara lain: lisis dinding sel dan membran sel, presipitasi atau pemisahan, dan pemurnian DNA atau purifikasi (Shetty, 2020). Lisis sel bertujuan untuk menghancurkan dinding dan membran sel, sehingga bagian dalam sel dapat keluar. Tahap pemisahan atau presipitasi DNA dari materi lain seperti lipid, protein, polifenol, dan polisakarida. Tahap terakhir purifikasi atau pemurnian DNA dari residu untuk menghasilkan DNA murni.

Isolasi DNA tumbuhan diambil dari beberapa bagian tumbuhan antara lain daun, bunga, buah, biji, dan kulit batang (Maftuchah,

et al., 2014). DNA pada tumbuhan terdapat di dalam inti sel (nukleus) dan kloroplas. Isolasi DNA terbagi menjadi 2 metode yaitu modern dan konvensional. Setiap metode mempunyai keunggulannya masing-masing sesuai dengan jenis sampel yang digunakan. Metode isolasi DNA konvensional seperti, CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) dan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfat*). Metode isolasi modern menggunakan kit antara lain GeneJET, Tiangen, dan Geneaid (Dairawan & Preetha, 2020). Jenis sampel dan metode isolasi dapat mempengaruhi kemurnian DNA serta sampel segar lebih baik dari sampel awetan.

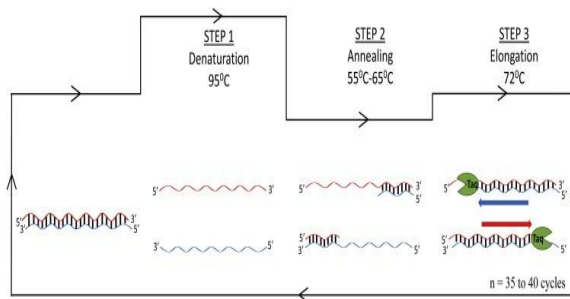
b. Amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Metode PCR merupakan teknik amplifikasi *in vitro* dari beberapa fragmen DNA menggunakan sistem temperature suhu dan bantuan enzim (Muftuchah *et al.*, 2014). PCR merupakan metode molekuler yang dapat menggandakan sekuen DNA menjadi jutaan kali dalam waktu singkat. Proses amplifikasi menggunakan enzim dan sepasang primer

spesifik bagi target DNA yang akan dilipatgandakan.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah salah satu metode praktis dan cepat dalam mendeteksi dan konfirmasi gen pada sampel tanaman dengan mengamplifikasi segmen DNA. Komponen dalam PCR yaitu DNA template hasil isolasi, sepasang primer (*Forward* dan *Reverse*), buffer PCR, dNTPs (*deoxynucleotide triphosphates*), magnesium klorida (MgCl_2), dan DNA *polymerase*. PCR terdapat beberapa komponen seperti potongan DNA yang akan diamplifikasi, primer yaitu suatu sekuen dari oligonukleotida pendek, beruntai tunggal, dan melengkapi ujung-ujung template DNA yang digunakan untuk sintesis DNA, dNTPs (*deoxynucleotide triphosphates*) terdiri atas dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP, enzim DNA *polymerase* yaitu enzim katalisis reaksi sintesis rantai DNA, dan larutan buffer untuk mempertahankan pH (Etisham, 2016).

Tahapan PCR terdiri atas denaturasi, *annealing*, dan *extension*. Denaturasi merupakan proses pemisahan atau terbukannya untai ganda DNA menjadi untai tunggal karena pemanasan suhu tinggi 94-95°C. *Annealing* adalah proses menempel atau melekatnya primer pada cetakan DNA sesuai dengan urutan pasangan nukleotidanya (komplementer) dengan penurunan kisaran suhu 50-60°C. *Extension* adalah proses pemanjangan atau elongasi DNA dibantu dengan enzim *Taq polymerase* untuk memulai aktivitas pemanjangan DNA primer dari ujung 3' pada suhu 72°C (Dewi, 2012). Proses PCR dilakukan secara berulang hingga 25-35 siklus, penggunaan siklus berlebih dapat meningkatkan jumlah produk non target.

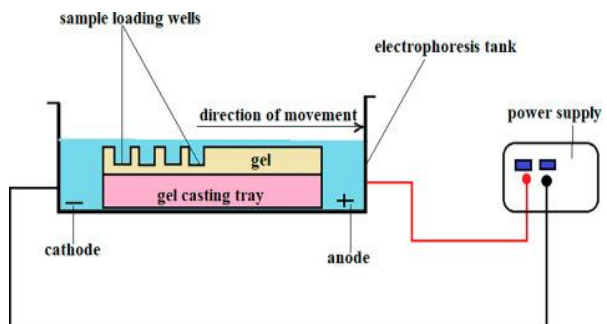


Gambar 2. 4 *Polymerase Chain Reaction*
(Overbergh *et al.*, 2017)

c. Elektroforesis DNA

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul DNA berdasarkan muatan, ukuran, dan bentuk dalam medium dengan medan listrik (Fatchiyah *et al.*, 2011). Elektroforesis gel agarose adalah teknik pemisahan fragmen asam nukleat (DNA dan RNA) berdasarkan ukurannya. DNA bermuatan negatif (anion) akan bermigrasi menuju gel yang bermuatan positif (kation) melalui pori-pori gel agarose, fragmen yang lebih kecil bermigrasi lebih cepat ketika dialirkan alur listrik. Gel agarosa merupakan media penyangga yang paling umum digunakan untuk analisis elektroforesis DNA. Agarosa merupakan polisakarida linier alami dari D-

galaktosa dan 3,6-anhidrigalaktosa yang diekstrak dari rumput laut dan saat dipanaskan dengan larutan penyangga membentuk matriks gel melalui ikatan hidrogen (Magdeldin, 2012). Proses elektroforesis terdiri dari 2 fase, yaitu fase diam berupa gel agarosa yang dicampur dengan buffer untuk menjaga keasaman dan fase gerak berupa larutan elektrolit yang disesuaikan dengan pH senyawa yang akan dipisahkan. Elektroda berfungsi sebagai penghubung arus listrik dengan media pemisah, sedangkan baterai berfungsi sebagai sumber energi listrik bagi alat (Ridwan, 2018).



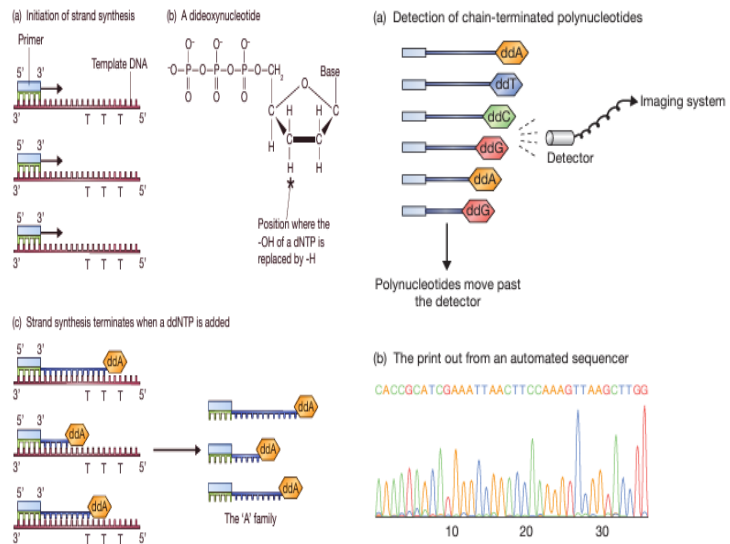
Gambar 2. 5 Alat Elektroforesis
(Rana & Joshi, 2023)

d. *Sequencing*

Sequencing adalah teknik untuk menentukan urutan nukleotida (adenin, guanin, sitosin, dan timin) dalam fragmen DNA pendek. Pengurutan asam nukleat menentukan kode genetik molekul DNA yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu spesies. Metode *sequencing* yang umum dilakukan menggunakan metode sanger yang dikembangkan oleh Frederick Sanger pada tahun 1975. Metode sanger adalah *sequencing* generasi awal dan menjadi metode standar dalam mengidentifikasi sekuens DNA, hal ini karena metode ini efisien, praktis, lebih mudah, dan biaya murah (Kchouk *et al.*, 2017).

Metode sanger dikenal dengan metode terminasi rantai, proses *sequencing* mulai dengan amplifikasi (PCR) fragmen DNA. Metode *sequencing* sanger diciptakan dengan beberapa modifikasi dari metode PCR yaitu menggunakan sebuah primer dapat membaca satu arah, ddNTPs (*dideoxy-Nucleotide Triphosphate*) berfungsi untuk menghentikan

perbanyak nukleotida, visualisasi menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid, dan amplifikasi DNA jumlah produk hasil *sequencing* tetap sesuai dengan cetakan aslinya (Guzvic, 2013). Elektroforegram adalah hasil pembacaan *sequencing* terdiri dari puncak-puncak berwarna yang menunjukkan urutan basa nukleotida. Pada prinsipnya, metode Sanger menggunakan pendekatan sintesis molekul DNA baru dan menghentikan sintesis pada basa tertentu. Metode Sanger memanfaatkan dua sifat enzim DNA polimerase yaitu kemampuan untuk mensintesis DNA dengan adanya dNTP dan ketidakmampuan untuk membedakan antara dNTP dan ddNTP. (Sanger *et al.*, 1977). ddNTP tidak memiliki gugus 3'-OH (hidroksil). Enzim *Taq polymerase* dapat menggabungkan ddNTP ke dalam untai DNA yang disintesis melalui gugus trifosfat 5', tetapi tidak adanya gugus 3'-OH mencegah pembentukan ikatan fosfodiester dengan dNTP berikutnya. Sintesis DNA berakhir pada posisi ddNTP.



Gambar 2.6 Proses Sequencing
(Brown, 2010)

e. Analisis data

Analisis data adalah proses menentukan hasil akhir DNA *barcoding* dan pengurutan DNA dengan perangkat lunak aplikasi MEGA (*Molekuler Evolutinary Genetycs Analysys*). Program MEGA adalah aplikasi komputer untuk membandingkan dan menganalisis urutan gen homolog. Program ini menganalisis jauh dekatnya hubungan kekerabatan berdasarkan identik atau tidak diantara spesies.

Perangkat lunak MEGA digunakan untuk dua tujuan utama yaitu menyimpulkan hubungan evolusi antara sekuens homolog dan memperkirakan keragaman evolusi netral dan selektif diantara sekuens. Program ini menghasilkan pohon filogenetik dan matriks jarak evolusi. (Kumar *et al.*, 2018). Beberapa tahapan umum meliputi penginstalan program, editing data sekuen, dan penyelarasan. Hasil analisis disajikan dalam bentuk diagram filogenetik, yang menggambarkan sekuens yang memiliki hubungan kekerabatan dan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang terdekat. Database hasil analisis disimpan dalam *GenBank* seperti NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) sebagai server untuk memuat database yang terus diperbarui dengan penemuan terkini tentang DNA, protein, senyawa aktif, dan taksonomi (Apsari *et al.*, 2018).

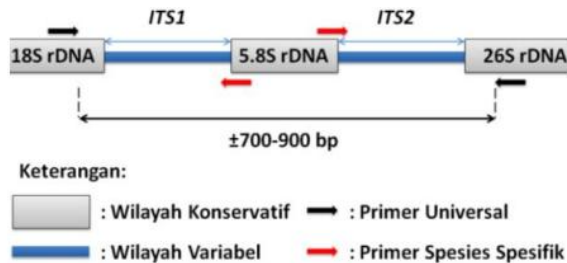
5. *Internal Transcribed Spacer (ITS)*

Wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) adalah bagian dari susunan rDNA dan terletak di antara daerah pengkode rDNA SSU (*Small Subunit*) dan rDNA LSU (*Large Subunit*). Wilayah ITS yang berada dalam lokus *nuclear ribosomal DNA* (nrDNA). ITS merupakan DNA *non-coding* yang terletak diantara gen ribosom subunit kecil (18S rDNA) dan ribosom subunit besar (26S rDNA). Lokus ITS seperti, ITS1 dan ITS2 merupakan DNA *non-coding* yang terletak di antara DNA *coding* (18S rDNA, 5.8S dan 26S rDNA). ITS dibagi menjadi ITS1 dan ITS2, yang dipisahkan oleh gen yang mengkode rDNA 5.8S. Sekuen pada wilayah 5.8S yang terdapat diantara ITS1 dan ITS2 bersifat konservatif dan berguna dalam perancangan serta pengembangan sekuen primer yang dapat membagi kedua lokus ITS (Shneyer, 2009). Wilayah ITS2 adalah penanda yang potensial dan banyak digunakan untuk rekonstruksi filogenetik pada tingkat genus dan spesies. Tingkat keberhasilan untuk sekuen ITS2 adalah 92,7% dan 99,8% pada sampel spesies dan genus (Chen *et al.*, 2010). Wilayah ITS2 pada

tumbuhan merupakan DNA *barcode* yang cocok untuk melakukan autentifikasi taksa pada tingkat yang berbeda. Menurut (Zhang & Li, 2013) dengan menggunakan ITS sebagai gen maka amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *sequencing* dilakukan dua arah (*forward* dan *reverse*) dan tingkat variasi yang tinggi bahkan diantara spesies yang berkaitan erat. Lokus ITS dimanfaatkan sebagai penanda molekuler karena sekuennya bersifat konservatif, universal, spesifik pada setiap spesies dan dapat dengan mudah diamplifikasi menggunakan metode PCR yang dilakukan dalam pengurutan nukleotida (*sequencing*) menggunakan primer (Adit *et al.*, 2022). Wilayah ITS memiliki keunggulan seperti variasi tinggi hingga intraspesies dapat membedakan yang secara morfologinya mirip, konservatif dalam satu spesies sehingga urutan nukleotidanya cukup stabil, dan universal untuk organisme eukariotik.

Wilayah ITS sering digunakan dalam analisis filogenetik molekuler karena memiliki karakteristik unggul, termasuk panjang sekitar 700-900 bp dan banyak salinan dalam genom inti.

Sekuen ITS dapat memberikan lebih banyak informasi yang berhubungan dengan pewarisan biparental, yaitu keturunan mewarisi alel maternal dan paternal untuk satu gen dalam merekonstruksi pohon filogenetik dibandingkan sekuen pada lokus kloroplas (Huyen *et al.*, 2017). Menurut Kress *et al.*, (2005) sekuen ITS sebagai DNA *barcode* tumbuhan berbunga pada tingkat spesies menunjukkan bahwa ITS memiliki nilai divergensi yang jauh lebih tinggi dibandingkan wilayah kloroplas.



Gambar 2. 7 Region Internal Transcribed Spacer
(Su'udi *et al.*, 2023)

B. Kajian Penelitian Terdahulu

Penelitian molekuler tentang identifikasi tumbuhan pada genus *Durio* sudah dilakukan di Indonesia, namun untuk Kebun Raya Bogor masih terdapat koleksi yang belum teridentifikasi. Penelitian-penelitian sebelumnya banyak yang menjelaskan spesies-spesies *Durio* yang sudah teridentifikasi baik morfologi maupun molekuler dengan marka yang berbeda. Beberapa penelitian terdahulu yang relevan mengenai identifikasi genus *Durio* sebagai berikut:

Tabel 2. 1 Penelitian terdahulu

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
1.	Karakterisasi Morfologi dan DNA <i>Barcoding</i> <i>Durio macrantha</i> Kosterm. Koleksi Kebun Raya Bogor (Skripsi; Diyana, S.R. 2023).	Penelitian ini dengan dua metode yaitu morfologi dan molekuler dengan DNA <i>barcoding</i> sekuen <i>rbcL</i> dan ITS.	Hasil karakterisasi morfologi yang diperoleh dari <i>D. macrantha</i> adalah organ vegetatif tanaman memiliki dua warna yang berbeda pada permukaan atas dan bawah, susunan daun berseling, terdapat pembengkakan pada batang, tekstur permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang lurus dengan arah percabangan menyebar, dan bentuk tajuk piramidal. Hasil karakterisasi profil sekuen <i>rbcL</i> tanaman <i>D. macrantha</i> menunjukkan panjang pita DNA sekitar 563 bp dan profil sekuen ITS tanaman <i>D. macrantha</i> memiliki panjang pita DNA sekitar 846 bp.	Penelitian ini berfokus pada <i>Durio macrantha</i> dengan karakterisasi morfologi organ vegetative tidak membahas organ generatif lainnya seperti bunga dan buah.

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
2.	Phylogeny of Indonesian durian (<i>Durio</i> sp.) germplasm based on polymorphism of ITS-nrDNA sequences (Santoso <i>et al.</i> , 2017).	Penelitian ini menggunakan metode analisis filogenetik dengan 149 sampel plasma nutfah durian. Urutan ITS dari sampel plasma nutfah dan sampel dari GenBank disejajarkan dengan Clustal W, dan pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan perangkat lunak Geneious R6 PC.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa sekuen ITS-nrDNA terkonservasi dalam genus <i>Durio</i> untuk menentukan sistematika durian pada tingkat antarspesies. Pohon filogenetik menunjukkan resolusi evolusi rendah dari daerah di sekitar <i>Durio zibethinus</i> Oleh karena itu, gen ini tidak cocok untuk identifikasi keragaman genetik durian pada tingkat intraspesies pada spesies.	Penelitian ini berfokus pada sampel yang ada dari <i>GenBank</i> kemudian disejajarkan untuk analisis filogenetik pada hubungan kekerabatan antarspesies maupun intraspesies. Pengambilan sampel tidak mewakili seluruh keragaman spesies durian di Indonesia. Hubungan genotip dan fenotip tidak spesifik.
3.	Keragaman durian berdasarkan fragmen Internal transcribed Spacer (ITS) DNA ribosomal melalui analisis PCR-RFLP (Hikmah <i>et al.</i> , 2016).	Penelitian ini menggunakan metode <i>Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polimorfism</i> (PCR-RFLP) adalah metode untuk menganalisis hasil DNA fragmen panjang perbedaan	Daerah DNA ribosom ITS diamplifikasi menggunakan teknik PCR-RFLP dengan memanfaatkan primer spesifik L ITS dan ITS 4 yang menghasilkan panjang fragmen ITS pada 800 bp. Amplikon dicerna	Penelitian ini berfokus pada fragmen ITS sehingga terbatas, pemilihan enzim restriksi juga dapat mempengaruhi serta, tidak semua variasi genetik dapat terdeteksi dengan metode ini.

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
		yang menggunakan restriksi endonuclease.	mencerna enzim dengan menggunakan enam enzim restriksi AluI, Eco471, Bsp1431, BsuRI, Mph11301 dan Ade1. Kultivar yang berbeda akan menunjukkan pola pita yang berbeda pada elektroforesis gel, hal ini dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan kekerabatan yang dekat.	
4.	Molecular diversity of exotic durian (<i>Durio</i> spp.) germplasm: a case study of Kalimantan, Indonesia (Mursyidin <i>et al</i> , 2022).	Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan menggunakan 18 sampel <i>Durio</i> yang berasal dari Kalimantan yang diperoleh dari basis data GenBank menggunakan gen penanda <i>rbcl</i> .	Hasil penelitian menunjukkan analisis pohon filogenetik menunjukkan plasma nutfah <i>Durio</i> dipisahkan menjadi 4 klade dan 6 kelompok. <i>Durio zibethinus</i> sangat erat hubungannya dengan <i>Durio exleyanus</i> sedangkan <i>Durio lowianus</i> dan <i>Durio excelsus</i> memiliki hubungan kekerabatan yang jauh.	Penelitian ini berfokus pada keragaman genetik durian di Kalimantan saja sehingga masih memungkinkan spesies durian dari daerah lain di Indonesia mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat.

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
5.	<i>Durio gerikensis</i> (Malvaceae), a new Arilless <i>Durio</i> from Hulu Perak, Malaysia (Ghazalli <i>et al.</i> , 2022).	Penelitian ini menggunakan identifikasi sampel segar secara morfologi organ daun, bunga dan buah dan spesimen herbarium (MDI12456, MDI12459) yang disimpan di MARDI (Kompleks MyGenebank™ MARDI Serdang). Spesimen untuk <i>D. lanceolatus</i> dan <i>D. singaporensis</i> juga diamati untuk perbandingan.	Hasil penelitian menunjukkan <i>Durio gerikensis</i> memiliki bunga merah muda kemerahan, buah kecil berdiameter 6 – 7,5 cm berwarna kuning keemasan hingga pucat. Secara morfologi, <i>Durio gerikensis</i> mirip dengan <i>D. lanceolatus</i> Mast. (Masters 1875:499) dan <i>D. singaporensis</i> Ridl. (Ridley 1916: 143) tetapi keduanya berbeda dalam karakteristik daun, bunga, dan buah.	Penelitian ini berfokus pada identifikasi secara morfologi organ vegetatif dan organ generatif, namun belum identifikasi secara molekuler DNA <i>Barcoding</i> untuk menentukan spesies ini merupakan benar spesies baru atau bukan.
6.	DNA Barcode of <i>Homalomena pexa</i> inferred from Internal Transcribed Spacer Region (Aprilianingsih <i>et al.</i> , 2022).	Penelitian ini menggunakan metode identifikasi secara molekuler DNA <i>Barcoding</i> marka ITS dan memperkirakan posisi spesies dalam pohon filogenetik Araceae.	Hasil penelitian menunjukkan <i>Hamalomena pexa</i> berkelompok dengan <i>Hamalomena atrox</i> dan <i>Hamalomena humilis</i> dengan nilai bootstrap sebesar 97%. Penelitian ini menunjukkan bahwa sekuen ITS dapat	Penelitian ini berfokus pada identifikasi molekuler DNA <i>Barcoding</i> , namun perbandingan dengan data morfologi tidak dijelaskan.

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
			digunakan untuk memvalidasi dan mendukung identifikasi spesies pada famili Araceae.	
7.	Ethnobotany and local conservation of <i>Durio graveolens</i> Becc. (Malvaceae): A threatened wild edible fruit plant in Sumatra, Indonesia (Syamsuardi <i>et al</i> , 2024).	Penelitian ini menggunakan metode wawancara. Sebanyak 389 responden dilibatkan dalam penelitian ini, dengan mempertimbangkan jenis kelamin, usia, dan status pendidikan. Wawancara semi-terstruktur dan observasi lapangan digunakan untuk mengumpulkan data. Data dianalisis menggunakan metode statistik deskriptif. Uji chi-square Pearson, direct matrix ranking, dan pairwise ranking digunakan untuk menghitung pengetahuan etnobotani responden.	Hasil penelitian <i>Durio graveolens</i> menyediakan berbagai kegunaan bagi mata pencaharian penduduk lokal sebagai makanan, bahan bangunan, kayu bakar, furnitur, peralatan pertanian, pagar, dan pakan ternak. Sikap dan minat responden terhadap pemeliharaan dan pelestarian spesies ini ditemukan berhubungan signifikan dengan kelompok usia dan status pendidikan.	Penelitian ini berfokus hanya pada spesies <i>Durio graveolens</i> tidak dibandingkan dengan spesies lain yang ada di wilayah Sumatra.

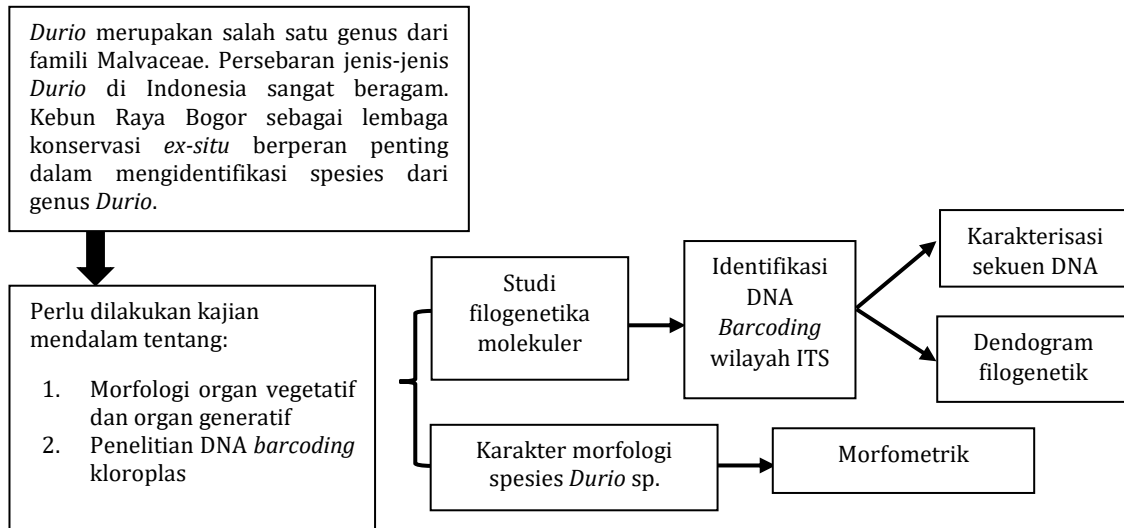
No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
8.	Potential Geographic Distribution of <i>Durio oxleyanus</i> (Malvaceae): a Threatened Wild Fruit Plant Species in Sumatra, Indonesia (Suwardi <i>et al.</i> , 2023).	Penelitian ini menggunakan metode: pengumpulan data lokasi geografis, pemeriksaan variabel faktor lingkungan, konstruksi dan verifikasi model.	Hasil penelitian ini untuk menilai potensi distribusi <i>D. oxleyanus</i> di Sumatra, menentukan variabel utama yang memengaruhi distribusi <i>D. oxleyanus</i> dan kisaran yang sesuai, dan mensimulasikan tren perubahan habitat yang sesuai bagi <i>D. oxleyanus</i> dalam skenario perubahan iklim.	Penelitian ini tidak menjelaskan karakterisasi morfologi dari <i>Durio oxleyanus</i> sehingga belum mendukung terkait dengan pengaruhnya terhadap faktor perubahan lingkungan.
9.	Varietas durian (<i>Durio zibethinus</i> L.) di Kabupaten Kota Bahagia, Aceh Selatan, Indonesia (Mardudi <i>et al.</i> , 2021).	Penelitian ini menggunakan metode pengumpulan data pengamatan morfologi secara langsung di lapangan. Analisis data dengan statistik deskriptif. Indeks kesamaan dari tiap pasangan Satuan Taksonomi Operasional (STO) dihitung dengan menggunakan rumus koefisien asosiasi	Penelitian ini menemukan 18 varietas durian di lima desa di Kecamatan Kota Bahagia, yaitu Jantung, Semut, Nanas, Kunyit, Bintang, Tamago, Labu, Bingen, Patai, Jelatang, Jerat, Ampo, Toba, Lilin, Kondo, Limeng, Langsung, dan Gadang Tampok. Varietas Limeng (Lm) dan Patai (Pa) memiliki nilai indeks kesamaan tertinggi dengan nilai koefisien asosiasi sebesar 63,04, sedangkan varietas	Penelitian ini berfokus pada karakteristik morfologi, sedangkan identifikasi secara molekuler belum diteliti.

No	Judul / Nama / Tahun	Metode	Hasil	Research Gap
			Nanas (Na) dan Semut (Se) serta varietas Kondo (Ko) dan Nanas (Na) memiliki nilai terendah dengan koefisien asosiasi masing-masing sebesar 15,21.	
10.	Genetic Diversity of Durian (<i>Durio zibethinus</i> Murr.) from North and South Nias using Simple Sequence Repeat (SSR) (Ndruru <i>et al.</i> , 2023).	Penelitian ini menggunakan metode <i>Simple Sequence Repeat</i> (SSR) yaitu, sekuen pendek DNA yang diulang-ulang. Analisis sekuens dilakukan menggunakan NTSys (Numerical Taxonomy and Multivariate Analisis System)	Hasil penelitian ini menunjukkan tingkat keragaman genetik yang cukup tinggi diantara durian dari Nias Utara dan Nias Selatan.	Penelitian ini berfokus pada keragaman genetik intraspesies <i>Durio</i> , sedangkan karakteristik morfologi setiap varietas belum diteliti.

Berdasarkan beberapa literatur penelitian terkait identifikasi genus *Durio* koleksi Kebun Raya Bogor mulai dilakukan. Proses identifikasi untuk menentukan spesies koleksi yang belum diketahui dengan metode DNA *barcoding*, hal ini karena kurangnya kelengkapan data karakter morfologi yang berhubungan dengan umur fisiologis tanaman.

C. Kerangka Berpikir

Kerangka berpikir dalam penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif deskriptif. Jenis penelitian kualitatif dengan menuliskan data hasil penelitian yang dilakukan dengan teknik identifikasi molekuler seperti PCR, DNA *barcoding*, dan *sequencing*. Data penelitian yang dideskripsikan meliputi panjang fragmen DNA, nilai kemiripan sekuen, atau hasil BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Molekuler, Kebun Koleksi Ilmiah (KKI) Kebun Raya Bogor, BRIN pada bulan Januari - Februari 2024. Analisis data dilakukan di Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang pada bulan September - Februari 2025.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada pengambilan sampel di lapangan antara lain gunting dahan, plastik klip, alat tulis, buku tulis, dan galah bambu. Alat yang digunakan pada penelitian molekuler yaitu mikropipet (*Eppendro* ukuran 0,1 μ l - 2,5 μ l, 0,5 μ l - 10 μ l, 2 μ l -20 μ l, 10 μ l - 100 μ l, dan 100 μ l - 1000 μ l), *vortex* (*VWR-Digital Vospin downrtex Mixer*), *spin down centrifuge* (*Tomy* dan *EMS-Myfuge*), *mikrotube* 0,2 ml, 1,5 ml, dan 2 ml, *tip* (warna biru, kuning, dan putih), rak *mikrotube* (*Axygen* ukuran 0,2 ml, 1,5 ml, dan 2 ml), *centrifuge* (*Thermo Electron Corporation*), PCR (*TaKaRa*), digital *heat block* (*VWR-Digital Heat blok*), *hulamixer* (*invitrogen*), *elektroforesis gel agarose* (*Mupid-exu*), *microwave* (*Sharp*), neraca analitik (*Precisa-XT 220 A*), *gel doc* (*BIO-RAD EZ imager*), *UV Tray* (tatakan elektroforesis), spatula, gelas beaker (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), erlemeyer 125 ml (*Pyrex*), *Freezer*

(*Sanyo*), mortar dan pastle, komputer (*LG*), dan kulkas (*LG*).

2. Bahan

Materi genetika dalam penelitian ini berupa sampel daun segar *Durio* sp. yang dikoleksi dari KKI Kebun Raya Bogor (**Tabel 3.1**). Bahan yang diperlukan penelitian ini yaitu : sampel daun *Durio* sp., pasir silika, ammonium asetat, isopropanol, PVP (*Polyvinylpyrrolidone*), RNase, buffer TE, buffer CTAB, CIA 24 : 1 (*Chloroform* dan *Isoamyl*), *GelRed™ Nucleic Acid 10,000x In Water* (*Biotium*), Elektroforesis buffer TAE, DNA ladder 100 bp dan *gel agarose* 1% dan *Primer* AB101 F (5'-ACG AAT TCA TGG TCC GGT GAA GTG TTC G-3') dan AB102 R (5'-TAG AAT TCC CCG GTT CGG TCG CCG TTA C-3') (*Sun et al.*, 1994), NFW (*Nuclease Free Water*), DNA *Template*, dan PCR mix (*MyTaq™ HS Red Mix*).

Tabel 3. 1 Data Sampel *Durio* Kebun Raya Bogor

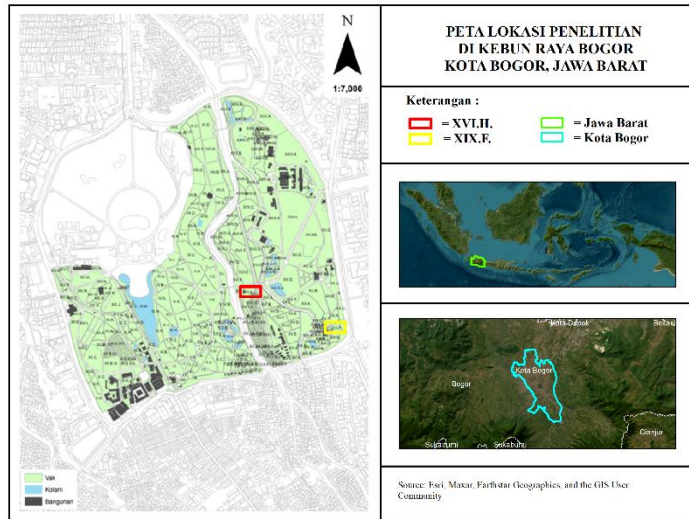
No.	Nama Tumbuhan	Kode Sampel	Lokasi Tumbuhan	Asal Koleksi
1.	<i>Durio</i> sp.	D8	XIX.F.88	Sumatra, Bengkulu
2.	<i>Durio</i> sp.	D9	XVI.H.74	Sumatra, Aceh
3.	<i>Durio</i> sp.	D11	XVI.H.70	Sumatra, Aceh

D. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel segar daun diambil dari tiga spesimen hidup koleksi Kebun Raya Bogor genus *Durio* sp. yang berasal dari beberapa daerah di pulau Sumatra. Daun *Durio* sp. yang dijadikan sampel berada di vak XIX.F.88, XVI.H.74, dan XVI.H.70. Pengambilan sampel daun *Durio* dengan petunjuk aplikasi *carry maps* (peta digital Kebun Raya Bogor) dan mengunduh peta Kebun Raya Bogor yang sudah teridentifikasi letak koleksi tanaman yang ada di Kebun Keleksi Ilmiah dilengkapi dengan

nomor koleksi, vak, asal daerah, dan famili. Beberapa kriteria yang harus diperhatikan saat pengambilan sampel daun yang akan digunakan untuk identifikasi dengan pendekatan molekuler adalah daun tidak terjadi kerusakan, terbebas dari hama, dan daun tidak terlalu muda ataupun tua. Sampel daun yang akan digunakan untuk isolasi DNA cukup 1 sampai 2 helai daun. Sampel daun dimasukkan dalam plastik klip dengan diberi kode sesuai dengan kode yang tertera pada koleksi tanaman dan disimpan dalam *freezer* jika sampel daun tidak dilakukan ekstraksi secara langsung.



Gambar 3. 1 Peta lokasi penelitian

2. Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi tumbuhan dilakukan menggunakan beberapa parameter secara kualitatif dan kuantitatif yang diamati pada sampel *Durio* segar koleksi Kebun Raya Bogor. Karakteristik parameter yang digunakan dalam penelitian ini berupa karakter morfologi *Durio* pada fase vegetatif bagian daun pada **Tabel 3.2**. Identifikasi morfologi *Durio* dengan menggunakan acuan dari buku “*Descriptors for*

Durian (Durio zibethinus Murr.)" (Bioversity, 2007).

Tabel 3. 2 Karakteristik Morfologi Daun *Durio*

No	Morfologi Daun	Karakteristik
1.	Bentuk helaian daun	<i>Obovate-lanceolate</i> (membundar telur-panjang), <i>oblong</i> (melonjong), <i>linier-oblong</i> (linier-lonjong), <i>elliptic</i> (elips), <i>ovate</i> (bulat telur), dan <i>obovate</i> (membundar telur).
2.	Tepi daun	<i>Entire</i> (rata) dan <i>Undulate</i> (bergelombang).
3.	Panjang daun	Pendek (<10,0 cm), menengah (10,1-15,0 cm), panjang 15,1-25,0 cm), dan sangat panjang (>25,0 cm).
4.	Lebar daun	Sempit (<3,0 cm), menengah (3,1-6,0 cm), lebar (6,1-9,0 cm), dan sangat lebar (>9,0 cm).
5.	Kondisi tangkai	Normal atau <i>swollen</i> (bengkak).
6.	Warna daun atas	Hijau muda, hijau, hijau tua, dan hijau kecoklatan.
7.	Warna daun bawah	<i>Silvery brown</i> (coklat keperakan) dan <i>coppery brown</i> (coklat tembaga).
8.	Tekstur daun	Halus, kasar, dan sangat kasar.
9.	Kilapan adaksial daun	Mengkilap atau tidak mengkilap.
10.	Kilapan abaksial daun	Mengkilap atau tidak mengkilap.
11.	Lapisan lilin daun adaksial	Kusam atau berkilau.
12.	Bentuk ujung daun (<i>apex</i>)	<i>Acute</i> (meruncing), <i>acuminate</i> (melancip), <i>long acuminate</i> (melancip panjang), <i>caudate</i> (berekor), dan <i>cuspidate</i> (runcing).

No	Morfologi Daun	Karakteristik
13.	Bentuk pangkal daun	<i>Round</i> (bulat), <i>obsute</i> (tumpul), <i>acute</i> (meruncing), <i>cuneate</i> (runcing), dan <i>cordate</i> (bentuk hati).
14.	Sikap daun (<i>Attitude</i>)	Semi tegak, terkulai 45° dan terkulai vertikal.
15.	Susunan daun	<i>Alternate</i> (berselang-seling) atau <i>opposite</i> (berhadapan).

3. Pengamatan Molekuler

Pengamatan secara molekuler terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut:

a. Penggerusan Sampel Daun

Daun segar *Durio* diambil 1 helai, kemudian disemprot alkohol untuk menghilangkan mikroba atau hama pada daun sehingga tidak mengkontaminasi sampel DNA. Bagian daun *Durio* diambil urutan ketiga dari ujung pucuk daun hal ini karena daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua sehingga mudah dalam proses penggerusan sampel daun dan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang sedikit seperti polifenol, polisakarida, dan protein, sehingga

meningkatkan kemurnian DNA (Hikmatyar *et al.*, 2015). Daun *Durio* dipotong-potong menjadi beberapa bagian lebih kecil pada helaian daun menggunakan gunting yang telah disemprot alkohol. Sampel daun yang dipotong dihaluskan menggunakan mortar dan alu dengan ditambahkan pasir silika kira-kira sebanyak $\frac{1}{4}$ spatula. Sampel halus menjadi bubuk dimasukan ke dalam tabung berukuran 2 ml sebagai sampel stok dan beri keterangan kode sampel.

b. Isolasi DNA

Alat dan bahan yang digunakan disiapkan terlebih dahulu. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode buffer CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). Metode CTAB yang dikembangkan oleh Doyle & Doyle (1990) dimodifikasi dengan penambahan senyawa PVP (*Polyvinylpyrrolidone*). Sampel daun yang halus dimasukan tabung 1,5 ml sampai batas garis 0,5 pada tabung. *Polyvinylpyrrolidone* (PVP) 0,2 gram dan

buffer CTAB sebanyak 1000 μ l ditambahkan, kemudian divortex hingga homogen. Inkubasi selama 30 menit dengan suhu 60°C dan diinvert (tabung dibolak-balik setiap 5 menit). *Cloroform Isoamyl Alcohol* (CIA) 24:1 ditambahkan sebanyak 700 μ l lalu diinvert dengan hulamixer selama 20 menit. Kemudian larutan disentrifugasi selama 10 menit 720 rpm. Supernatan dipindahkan pada tabung dengan menghitung volume jumlah supernatant, lalu ditambahkan isopropanol sebanyak 2/3 dari volume jumlah supernatan kemudian sentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang pada wadah botol limbah, *pellet* yang terbentuk bening atau tidak, lalu tabung dikeringkan dengan cara dibalik pada tissue selama 5 menit. Wash buffer $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (*Ammonium Asetat*) sebanyak 1 ml lalu diinvert dengan hulamixer selama 20 menit lalu disentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit kemudian supernatan dibuang,

ditambahkan 100 μl TE buffer dan dihomogenkan lalu simpan DNA *Template* pada suhu -30°C .

c. Amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan primer ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Proses amplifikasi diawali dengan menyiapkan *microtube* ukuran 0,2 ml. Pertama NFW (*Nuclease Free Water*) sebanyak 11 μl , kedua PCR mix (MyTaq™ HS Red Mix) sebanyak 25 μl , ketiga primer ITS AB101 F (*forward*) 2 μl dan AB102 R (*Reverse*) 2 μl , keempat DNA Template sebanyak 10 μl , volume total dalam *mikrotube* 50 μl . *Mikrotube* yang berisi campuran larutan 50 μl dimasukkan dalam *spin down* agar larutan yang menempel pada dinding *microtube* turun ke dasar *tube*. Amplifikasi PCR menggunakan mesin *Thermal Cycler*.

Tahap amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan primer ITS terdapat beberapa tahapan antara lain: pre-denaturasi dengan menggunakan suhu 95°C selama 2 menit, tahap denaturasi dengan menggunakan suhu 95°C selama 30 detik, tahap *annealing* dengan menggunakan suhu 58°C selama 30 detik, tahap *extension* dengan menggunakan suhu 72°C selama 20 detik. Tahap denaturasi, *annealing*, dan *extension* diulang sebanyak 35 kali. Selanjutnya tahap *post-extension* dengan suhu 72°C selama 4 menit. Prinsip denaturasi adalah proses pemisahan atau terbukanya rantai untai ganda DNA terpisah menjadi untai tunggal karena pemanasan suhu tinggi 94-95°C. *Annealing* adalah proses melekatnya primer pada cetakan DNA sesuai dengan urutan pasangan nukleotidanya dengan penurunan suhu 50-60°C. *Extension* adalah proses elongasi atau pemanjangan DNA dibantu dengan enzim DNA polymerase,

buffer, dNTPs, dan $MgCl_2$ memulai proses replikasi DNA ganda akan berlipat jumlahnya menjadi dua molekul DNA pada suhu $72^\circ C$.



Gambar 3. 2 Amplifikasi primer ITS

d. Elektroforesis

Pembuatan gel agarosa dilakukan dengan menimbang serbuk agarosa sebanyak 0,8 gram dan dimasukkan pada tabung erlemeyer 125 ml. Buffer TAE 1X sebanyak 80 ml ditambahkan ke dalam tabung erlemeyer kemudian ditutup dengan alumunium foil lalu dilubangi atasnya. Masukkan erlemeyer ke dalam microwave selama 1 menit, kemudian goyangkan erlemeyer agar serbuk agarose larut lalu buka alumunium foil tambahkan 0,5 μl gel red dan homogenkan. Gel agarose

dituang ke dalam cetakan elektroforesis yang telah di pasang sisir elektroforesis, kemudian diamkan hingga gel mengeras setelah itu cabut sisir elektroforesis dan keluarkan gel dari cetakan dan pindahkan pada elektroforesis yang sudah diberikan buffer TAE sampai gel agarose terendam. Masukkan DNA ladder 100 bp sebanyak 5 μ L dari paling kiri sebagai marker setelah itu, produk PCR dimasukkan pada lubang sumuran sebanyak 5 μ L. Elektroforesis selama 60 menit dengan tegangan 100 Volt. Selanjutnya visualisasi gel agarose di letakkan diatas *UV tray* lalu dimasukkan ke dalam *Gel-Doc* tipe BIO-RAD EZ Imager yang telah tersambung dengan komputer pada layar komputer akan terlihat pita visualisasi DNA. Setelah didapatkan amplikon yang baik, maka dilanjutkan proses *sequensing*.

e. *Sequencing*

Proses *sequencing* DNA di laboratorium 1st BASE DNA Malaysia, sampel *Durio* dikirim melalui jasa PT. Genetika Science Indonesia.

f. Analisis Data

Sekuen DNA diperoleh dari hasil *sequencing* dalam bentuk format AB1. Data sekuen *forward* dan *reverse* diolah dengan menggunakan aplikasi MEGA 11 (*Molekuler Evolutinary Genetycs Analysys*) dengan cara edit sekuen. Penyejajaran nukleotida dilakukan dengan menggunakan algoritma ClustalW (Hung *et al.*, 2015). Hasil penyejajaran diperiksa untuk mengetahui potensi ambiguitas nukleotida yang berasal dari insersi, delesi atau substitusi dan disimpan dalam bentuk file FASTA.

Sekuen sampel *Durio* sp. disejajarkan dengan database yang tersedia dalam BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) NCBI <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> untuk mengetahui tingkat kemiripan

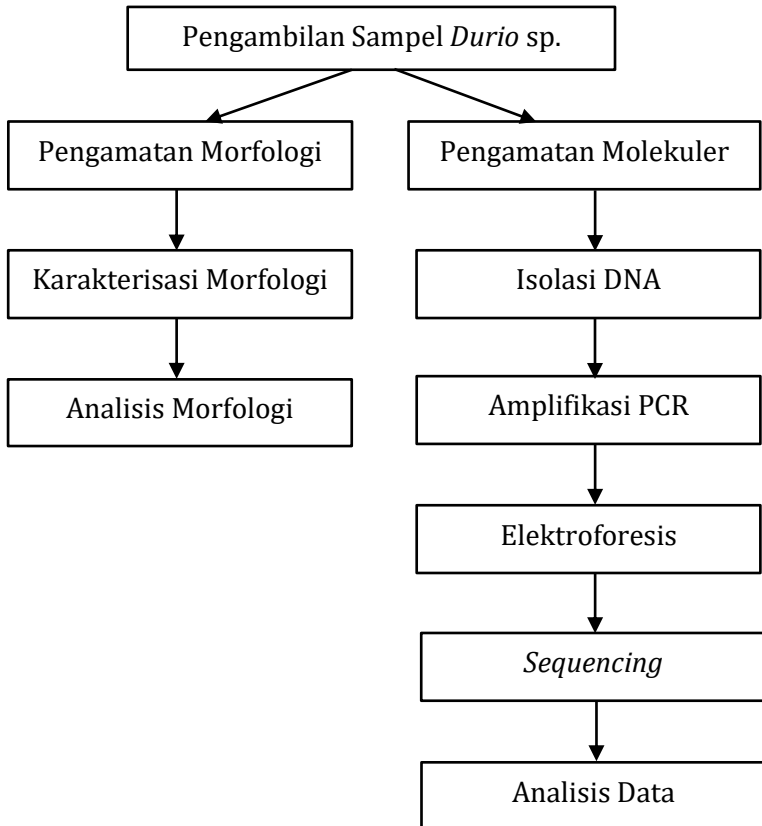
sekuen dengan database. BLAST adalah sebuah program pencarian kemiripan sekuen, sebagai alat untuk identifikasi gen dan karakter genetika. Hasil BLAST akan menunjukkan kemiripan atau kesamaan spesies sampel dengan data spesies yang tersedia dalam database NCBI. Proses ini bertujuan untuk menentukan identitas sampel dengan menyelaraskan dan membandingkan urutan nukleotida sampel dengan beberapa urutan nukleotida yang tersedia dalam *database* (Rukmana, 2015). Visualisasi penyelarasan antara sampel dan spesies database yang paling mirip dilakukan menggunakan *web multAlin*.

Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Maximum Likelihood* (ML) (Kumar *et al.*, 2018). Berdasarkan model Kimura 2-parameter model, dengan nilai pengulangan bootstrap 1000 kali. Metode *Maximum Likelihood* digunakan karena tidak hanya menghitung jarak genetika dari sekuen melainkan dengan

mempertimbangkan laju mutasi dan model evolusi dari setiap nukleotida. Metode ini pada umumnya digunakan pada sampel dengan kekerabatan pada taksa yang beragam (Mursyidin *et al.*, 2023).

E. Alur Kerja

Alur kerja pada penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3. 3 Alur kerja penelitian

BAB IV

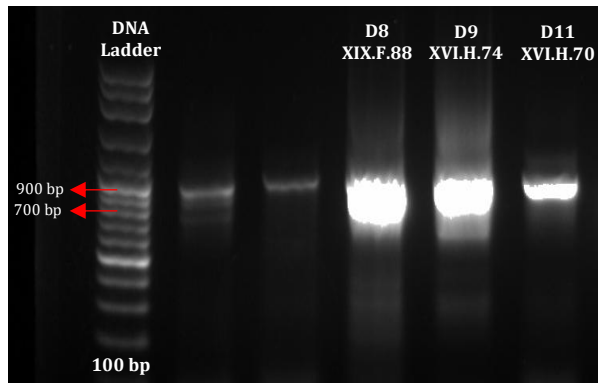
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Identifikasi sampel sekuen ITS *Durio* sp.

a. Visualisasi hasil amplifikasi produk PCR

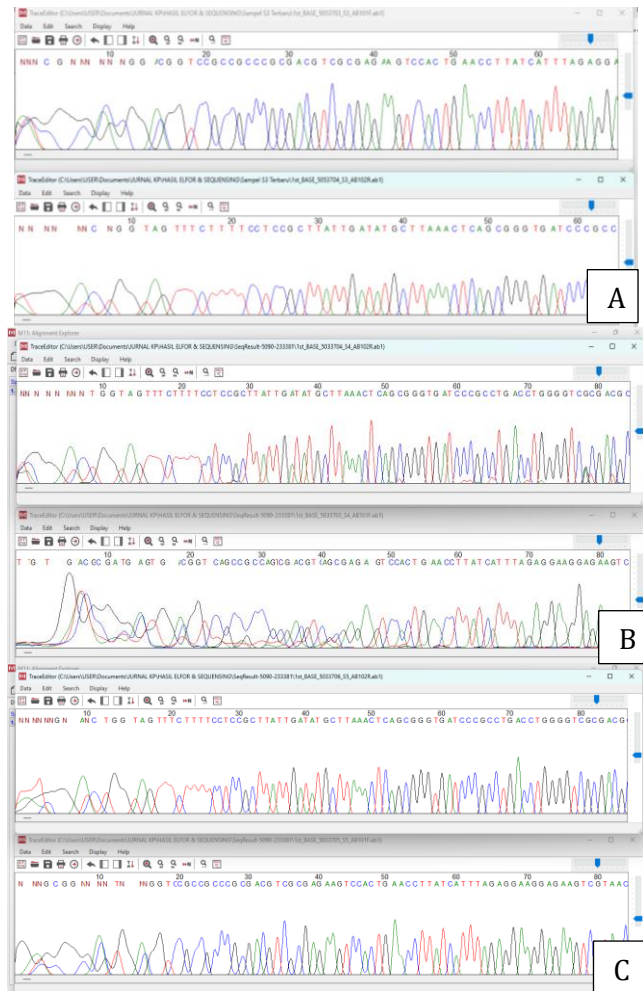
Visualisasi hasil amplifikasi produk PCR 3 sekuen *Durio* dengan menggunakan gel agarose 1% dan 100 bp DNA ladder memperlihatkan hasil ukuran fragmen DNA target berkisar antara 700 – 900 bp. Pita DNA yang terlihat tebal menunjukkan DNA sampel *Durio* berhasil diamplifikasi pada wilayah ITS. Berikut gambar hasil visualisasi produk PCR *Durio* sp.



Gambar 4. 1 Hasil visualisasi produk PCR

b. Elektroforegram sekuen *Durio* sp.

Hasil *sequencing* oleh laboratorium 1st BASE DNA Malaysia dalam bentuk file AB1 sekuen *forward* dan *reverse*. Proses *sequencing* dilakukan dari 2 arah *forward* ($5' \rightarrow 3'$) dan *reverse* ($3' \rightarrow 5'$). Data elektroforegram terdiri atas grafik fragmen DNA yang disertai warna garis yang berbeda-beda menunjukkan jenis nukleotidanya. Puncak elektroforegram terdiri atas 4 jenis nukleotida warna merah menandakan Timin (T), warna hijau menandakan Adenin (A), warna biru menandakan sitosin (C), dan warna hitam menandakan Guanin (G). Data elektroforegram sampel D8 menunjukkan hasil *peak* yang relatif baik untuk *file forward* dan *reverse*. Sampel D9 dan D11 menunjukkan *file reverse* relatif baik sedangkan *file forward* banyak *peak* yang saling bertumpang tindih dan puncak landai.



Gambar 4. 2 Elektroforegram sekuen sampel A: D8, B: D9, dan C: D11

c. Penyejajaran NCBI dan Identifikasi sampel

Sekuen ITS sampel D8, D9, dan D11 hasil penyejajaran dipilih masing-masing sebanyak 20 sekuen dari total 100 sekuen yang tersedia. Sekuen ITS yang dipilih berdasarkan pada *percent identity* yang paling tinggi untuk menunjukkan tingkat homologi antar spesies, *Query cover* yang mendekati 100%, dan *E Value*. Hasil penyejajaran menunjukkan kemiripan spesies sampel dengan data spesies database NCBI. Hasil BLAST sampel D8 menunjukkan kemiripan dengan sekuen *D. zibethinus* (XM022880025.1) berdasarkan *percent identity* 99.43% dan *query cover* 100%. Sampel D9 menunjukkan kemiripan dengan *D. graveolens* (OR631857.1) berdasarkan *percent identity* 91.41% dan *query cover* 100%. Sampel D11 menunjukkan kemiripan dengan *D. lanceolatus* (OR631859.1) berdasarkan *percent identity* 86.59% *query cover* 100%. Cetak tebal merah pada tabel menunjukkan database yang mempunyai kemiripan pada sampel. Tabel hasil BLAST sampel D8, D9 dan D11 disajikan sebagai berikut:

Tabel 4. 1 Hasil BLAST sampel D8 (XIX.F.88)

No	Nama Spesies	No Akses	Percent Identity	Query Cover	E Value
1.	<i>Durio zibethinus</i>	MT230654.1	99.55%	74%	0,0
2.	<i>Durio zibethinus</i>	XM022880025.1	99.43%	100%	0,0
3.	<i>Durio zibethinus</i>	MT230650.1	99.27%	78%	0,0
4.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629764.1	99.18%	83%	0,0
5.	<i>Durio zibethinus</i>	MW318979.1	99.17%	81%	0,0
6.	<i>Durio zibethinus</i>	AF233305.1	99.13%	78%	0,0
7.	<i>Durio zibethinus</i>	OR775701.1	99.11%	76%	0,0
8.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629762.1	99.06%	83%	0,0
9.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629776.1	99.05%	83%	0,0
10.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629763.1	99.04%	82%	0,0
11.	<i>Durio zibethinus</i>	MW316637.1	99.03%	81%	0,0
12.	<i>Durio kutejensis</i>	OR631858.1	97.06%	96%	0,0
13.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593305.1	92.30%	96%	0,0
14.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593301.1	92.29%	96%	0,0
15.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593302.1	92.50%	96%	0,0
16.	<i>Durio lanceolatus</i>	OR631859.1	96.10%	95%	0,0
17.	<i>Durio graveolens</i>	OR631857.1	97.83%	94%	0,0
18.	<i>Durio acutifolius</i>	OR631856.1	91.84%	94%	0,0
19.	<i>Durio oxleyanus</i>	OR631860.1	96.98%	93%	0,0
20.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593304.1	88.67%	93%	0,0

Tabel 4. 2 Hasil BLAST sampel D9 (XVI.H.74)

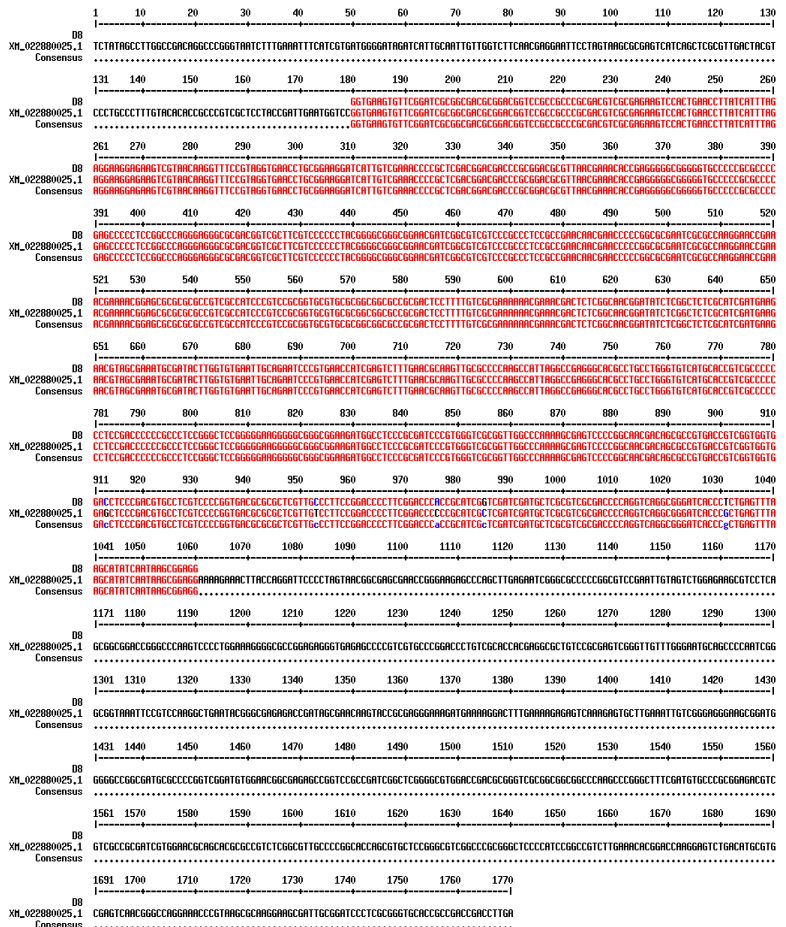
No	Nama Spesies	No Akses	Percent Identity	Query Cover	E Value
1.	<i>Durio graveolens</i>	OR631857.1	91.41%	100%	1e-105
2.	<i>Durio dulcis</i>	OR631920.1	91.38%	99%	4e-105
3.	<i>Durio lowianus</i>	ON841420.1	91.16%	62%	1e-60
4.	<i>Durio kutejensis</i>	OR631858.1	91.07%	100%	2e-103
5.	<i>Durio graveolens</i>	MF629760.1	90.91%	94%	9e-97
6.	<i>Durio dulcis</i>	AF287715.1	90.83%	78%	2e-78
7.	<i>Durio dulcis</i>	AF287713.1	90.79%	78%	7e-78
8.	<i>Durio zibethinus</i>	ON817266.1	90.61%	62%	5e-59
9.	<i>Durio graveolens</i>	MF629765.1	90.44%	100%	3e-101
10.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629780.1	90.44%	100%	3e-101
11.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629776.1	90.41%	100%	1e-100
12.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629753.1	90.07%	100%	5e-99
13.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593301.1	87.07%	100%	1e-84
14.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593302.1	86.73%	100%	7e-83
15.	<i>Durio dulcis</i>	OR631920.1	91.38%	99%	4e-105
16.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629777.1	90.03%	99%	2e-98
17.	<i>Durio lanceolatus</i>	OR631859.1	90.31%	99%	5e-99
18.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593305.1	86.64%	99%	7e-73
19.	<i>Durio acutifolius</i>	OR631856.1	84.43%	99%	1e-69
20.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629772.1	89.24%	98%	2e-93

Tabel 4. 3 Hasil BLAST sampel D11 (XVI.H.70)

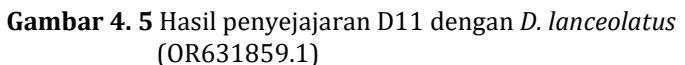
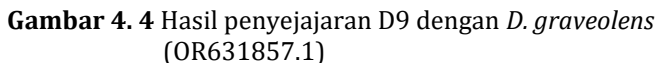
No	Nama Spesies	No Akses	Percent Identity	Query Cover	E Value
1.	<i>Durio zibethinus</i>	ON815633.1	91.25%	47%	7e-166
2.	<i>Durio beccarianus</i>	AF287707.1	90.12%	48%	4e-113
3.	<i>Durio beccarianus</i>	AF287706.1	89.81%	48%	2e-112
4.	<i>Durio testudinarius</i>	AF233308.1	89.47%	48%	3e-109
5.	<i>Durio griffithii</i>	AF233310.1	89.20%	48%	2e-170
6.	<i>Durio lanceolatus</i>	OR631859.1	86.59%	100%	0,0
7.	<i>Durio lanceolatus</i>	AF287709.1	84.70%	90%	1e-168
8.	<i>Durio sp. Gerik</i>	MZ326661.1	84.48%	94%	1e-173
9.	<i>Durio graveolens</i>	OR631857.1	84.37%	100%	0.0
10.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629780.1	83.85%	100%	2e-176
11.	<i>Durio kutejensis</i>	OR631858.1	83.53%	100%	4e-173
12.	<i>Durio zibethinus</i>	XM022880025.1	83.48%	100%	2e-171
13.	<i>Durio zibethinus</i>	XM022865011.1	83.60%	100%	7e-171
14.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629778.1	83.33%	99%	9e-170
15.	<i>Durio graveolens</i>	MF629765.1	83.85%	99%	2e-176
16.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629780.1	83.85%	99%	2e-176
17.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629779.1	83.31%	99%	3e-169
18.	<i>Durio oxleyanus</i>	OR631860.1	82.99%	99%	7e-166
19.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593302.1	81.89%	99%	1e-153
20.	<i>Durio acutifolius</i>	OR631856.1	80.86%	99%	3e-140

d. *Multiple Aligment* sekuen ITS

Proses penyejajaran sekuen DNA dari hasil BLAST yang memiliki kemiripan tinggi dengan sampel. Penyejajaran dilakukan menggunakan web *MultAlin*. Hasil penyejajaran urutan nukleotida sampel D8 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. zibethinus* (XM022880025.1) yang terdapat perbedaan 5 situs nukleotida. Sampel D9 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. graveolens* (OR631857.1) yang terdapat perbedaan 21 situs nukleotida. Sampel D11 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. lanceolatus* (OR631859.1) yang terdapat perbedaan 89 situs nukleotida. Warna hitam menunjukkan panjang nukletida database. Warna merah menunjukkan panjang nukletida yang sama antara sampel dengan database dan konsensus. Warna biru menunjukkan nukleotida yang berbeda antara sampel dan database. Hasil penyejajaran sekuen sampel disajikan pada gambar sebagai berikut:



Gambar 4. 3 Hasil penyandingan D8 dengan *D. zibethinus* (XM022880025.1)



2. Analisis Filogenetik Antar Spesies

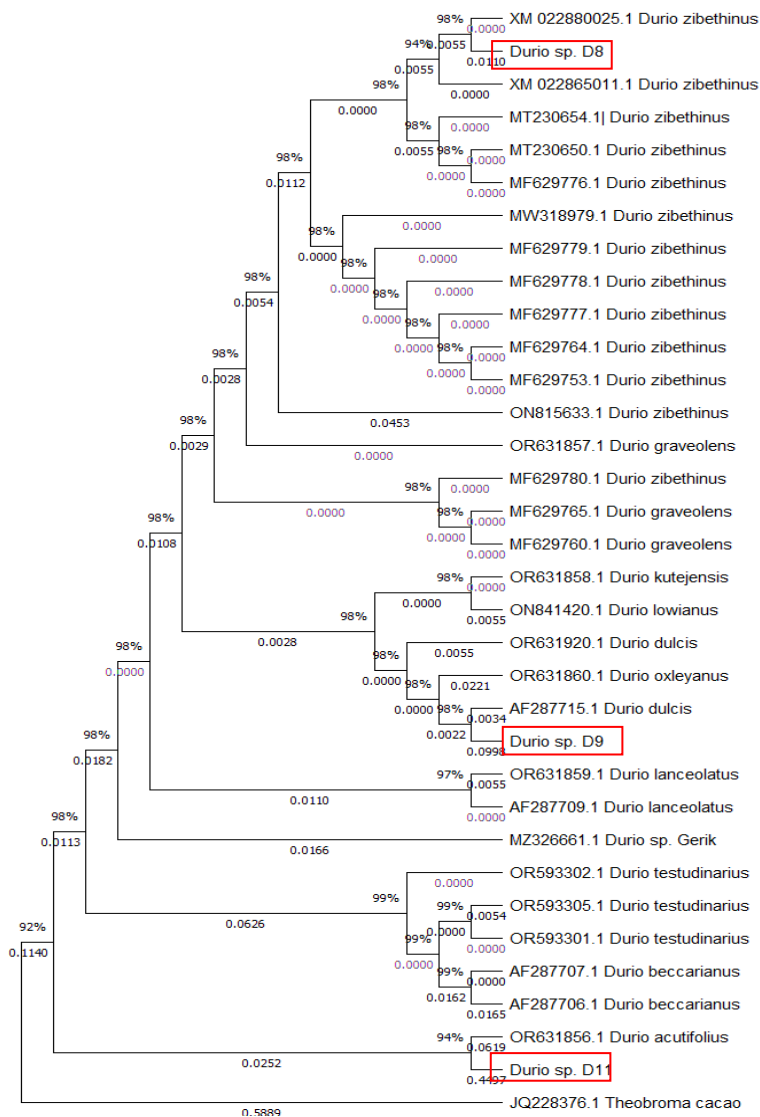
Rekonstruksi pohon filogenetik terdiri dari 3 sampel, 30 spesies hasil BLAST *ingroup* yang diambil masing-masing 10 sekuen *database* dari setiap sampel, dan 1 spesies *outgroup*. Spesies *outgroup* yang dipilih berasal dari famili yang sama *malvaceae* yaitu *Theobroma cacao*. Data sekuen yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 4. 4 Data sekuen pohon filogenetik

	No	spesies	No. Akses	Panjang sekuen
Sampel	1.	<i>Durio</i> sp. D8	-	881 bp
	2.	<i>Durio</i> sp. D9	-	291 bp
	3.	<i>Durio</i> sp. D11	-	670 bp
Outgroup	4.	<i>Theobroma cacao</i>	JQ228376.1	5941 bp
Ingroup	5.	<i>Durio zibethinus</i>	MT230654.1	701 bp
	6.	<i>Durio zibethinus</i>	XM022880025.1	1770 bp
	7.	<i>Durio zibethinus</i>	MT230650.1	688 bp
	8.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629764.1	734 bp
	9.	<i>Durio zibethinus</i>	MW318979.1	722 bp
	10.	<i>Durio kutejensis</i>	OR631858.1	883 bp
	11.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593305.1	856 bp
	12.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593301.1	863 bp
	13.	<i>Durio testudinarius</i>	OR593302.1	858 bp
	14.	<i>Durio acutifolius</i>	OR631856.1	829 bp

No	spesies	No. Akses	Panjang sekuen
15.	<i>Durio graveolens</i>	OR631857.1	837 bp
16.	<i>Durio dulcis</i>	OR631920.1	294 bp
17.	<i>Durio lowianus</i>	ON841420.1	620 bp
18.	<i>Durio dulcis</i>	AF287715.1	689 bp
19.	<i>Durio graveolens</i>	MF629760.1	730 bp
20.	<i>Durio graveolens</i>	MF629765.1	754 bp
21.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629780.1	754 bp
22.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629776.1	749 bp
23.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629753.1	740 bp
24.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629777.1	750 bp
25.	<i>Durio zibethinus</i>	ON815633.1	619 bp
26.	<i>Durio lanceolatus</i>	OR631859.1	848 bp
27.	<i>Durio lanceolatus</i>	AF287709.1	686 bp
28.	<i>Durio sp. Gerik</i>	MZ326661.1	762 bp
29.	<i>Durio beccarianus</i>	AF287706.1	693 bp
30.	<i>Durio oxleyanus</i>	OR631860.1	832 bp
31.	<i>Durio beccarianus</i>	AF287707.1	695 bp
32.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629779.1	747 bp
33.	<i>Durio zibethinus</i>	XM022865011.1	1049 bp
34.	<i>Durio zibethinus</i>	MF629778.1	744 bp

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik metode *Maximum Likelihood* membentuk kelompok *ingroup* dan *outgroup*. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel D8 membentuk cabang pengulangan 94% dan jarak genetik 0,0055 dengan *D. zibethinus* (XM022865011.1). Sampel D8 terbentuk pada percabangan yang sama dengan *D. zibethinus* (XM022880025.1) pada pengulangan sebanyak 98% dan jarak genetik 0,0055. Sampel D9 membentuk cabang pengulangan 98% dan jarak genetik 0,0028 dengan sekuen *D. kutejensis* (OR631858.1), *D. lowianus* (ON841420.1), *D. dulcis* (OR631920.1), *D. oxleyanus* (OR631860.1). Sampel D9 terbentuk pada percabangan yang sama dengan *D. dulcis* (AF287715.1) pada pengulangan 98% dan jarak genetik 0,0022. Sampel D11 membentuk cabang yang sama dengan *D. acutifolius* (OR631856.1) pada pengulangan 94% dan jarak genetik 0,0252.

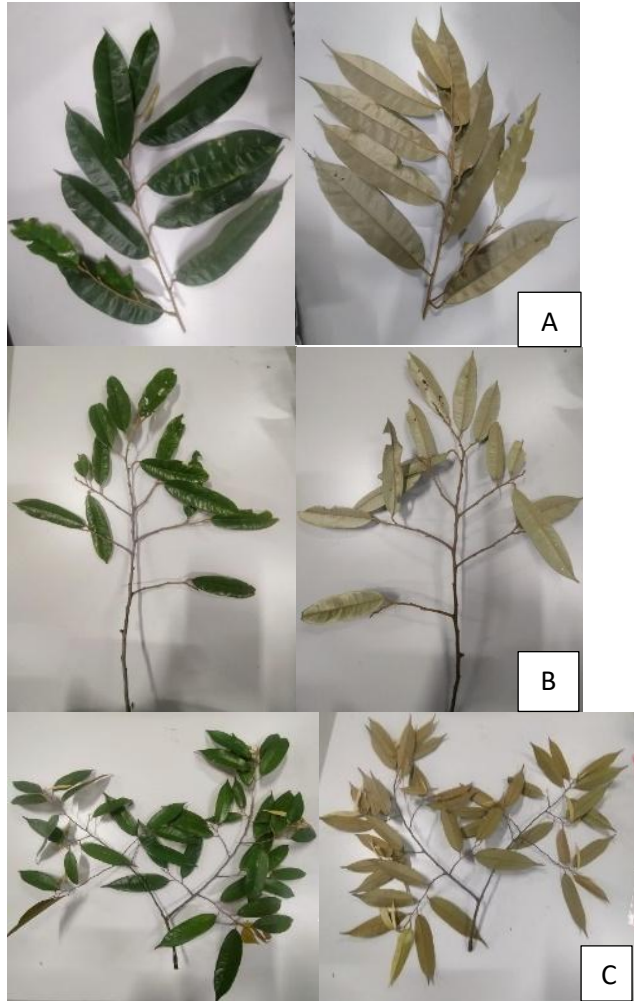


Gambar 4. 6 Pohon filogenetik sekuen ITS

3. Karakterisasi Morfologi *Durio* sp.

Hasil pengamatan terhadap karakter morfologi fase vegetatif 3 sampel pada bagian daun *Durio* D8, D9, dan D11. Sampel D8 memiliki bentuk daun melonjong dengan panjang helaian daun 23 – 27 cm dan lebar 7 – 8,5 cm. Tangkai daun/petiole bengkok menggembung, susunan daun *alternate* yaitu tumbuh berselang-seling pada setiap ranting terkulai 45°. Bagian ujung daun melancip panjang, pangkal daun bulat dan tepi daun rata, tekstur daun kasar dengan permukaan atas dan bawah sedikit mengkilap, warna permukaan bagian atas (adaksial) berwarna hijau tua dan bagian bawah (abaksial) coklat keperakan. Permukaan daun atas terdapat lapisan lilin yang sedikit berkilau. Sampel D9 memiliki karakter bentuk daun linear-lonjong dengan panjang helaian daun 9,5 – 10,5 cm dan lebar 2,5 – 3 cm. Tangkai daun/petiole sedikit bengkok, susunan daun *alternate* yaitu tumbuh berselang-seling pada setiap ranting posisi semi tegak. Bagian ujung daun melancip,

pangkal daun meruncing, dan tepi daun rata. Tekstur daun sangat kasar dengan permukaan daun atas dan bawah mengkilap. Warna permukaan daun atas hijau muda terdapat lapisan lilin dan bagian bawah coklat keperakan. Sampel D11 memiliki karakter bentuk daun linear-lonjong dengan panjang helain daun 10 – 11,5 cm dan lebar 2,7 – 3 cm. Tangkai daun/petiole normal, susunan daun alternate yaitu tumbuh berselang seling pada setiap ranting posisi terkulai 45°. Bagian ujung daun melancip panjang, pangkal daun meruncing, dan tepi daun rata. Tekstur daun halus dengan permukaan atas mengkilap terdapat lapisan lilin dan bawah tidak mengkilap. Warna permukaan daun bagian atas hijau dan bawah coklat keperakan. Berikut ini gambar dan tabel karakterisasi morfologi daun *Durio* D8, D9, dan D11.



Gambar 4. 7 A: D8 (XIX.F.88), B: D9 (XVI.H.74), dan C: D11 (XVI.H.70)

Tabel 4. 5 Karakterisasi Morfologi *Durio*

Sampel	Morfologi Daun	Karakteristik
D8 (XIX.F.88)	Bentuk helaian daun	<i>Oblong</i> (melonjong)
	Tepi daun	<i>Entire</i> (rata)
	Panjang daun	Sangat panjang 23 – 27 cm
	Lebar daun	Lebar 7 – 8,5 cm
	Kondisi tangkai	<i>Swollen</i> (bengkak)
	Warna daun atas	Hijau tua
	Warna daun bawah	<i>Silvery brown</i> (coklat keperakan)
	Tekstur daun	Kasar
	Kilapan adaksial daun	Mengkilap
	Kilapan abaksial daun	Mengkilap
	Lapisan lilin daun adaksial	Berkilau
	Bentuk ujung daun (<i>apex</i>)	<i>Long acuminate</i> (melancip panjang)
	Bentuk pangkal daun	<i>Round</i> (bulat)
	Sikap daun (<i>Attitude</i>)	Terkulai 45°
	Susunan daun	<i>Alternate</i> (berselang-seling)
D9 (XVI.H.74)	Bentuk helaian daun	<i>Linier-oblong</i> (linier-lonjong)
	Tepi daun	<i>Entire</i> (rata)
	Panjang daun	Menengah 9,5 – 10,5 cm
	Lebar daun	Sempit 2,5 – 3 cm
	Kondisi tangkai	<i>Swollen</i> (bengkak)
	Warna daun atas	Hijau muda
	Warna daun bawah	<i>Silvery brown</i> (coklat keperakan)
	Tekstur daun	Sangat kasar
	Kilapan adaksial daun	Mengkilap
	Lapisan lilin daun adaksial	Berkilau

Sampel	Morfologi Daun	Karakteristik
D11 (XVI.H.70)	Bentuk ujung daun (<i>apex</i>)	<i>Acuminate</i> (melancip)
	Bentuk pangkal daun	<i>Acute</i> (meruncing)
	Bentuk pangkal daun	<i>Acute</i> (meruncing)
	Sikap daun (<i>Attitude</i>)	Semi tegak
	Susunan daun	<i>Alternate</i> (berselang-seling)
	Bentuk helaian daun	<i>Linier-oblong</i> (linier-lonjong)
	Tepi daun	<i>Entire</i> (rata)
	Panjang daun	Menengah 10 – 11, 5 cm
	Lebar daun	Sempit 2,7 – 3 cm
	Kondisi tangkai	Normal
	Warna daun atas	Hijau tua
	Warna daun bawah	<i>Silvery brown</i> (coklat keperakan)
	Tekstur daun	Halus
	Kilapan adaksial daun	Mengkilap
	Kilapan abaksial daun	Tidak mengkilap
	Lapisan lilin daun adaksial	Berkilau
	Bentuk ujung daun (<i>apex</i>)	<i>Long acuminate</i> (melancip panjang)
	Bentuk pangkal daun	<i>Acute</i> (meruncing)
	Sikap daun (<i>Attitude</i>)	Terkulai 45°
	Susunan daun	<i>Alternate</i> (berselang-seling)

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Identifikasi sampel sekuen ITS *Durio* sp.

Durio yang ditanam dan sebagai koleksi Kebun Raya Bogor berasal dari Sumatra tepatnya wilayah Bengkulu dan Aceh. Konsevasi *ex-situ* melalui kebun raya sebagai upaya perlindungan berbagai jenis tumbuhan di luar habitat aslinya. Identifikasi genus *Durio* koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan pendekatan molekuler untuk mengetahui hingga tingkat spesies.

Identifikasi tanaman secara molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu isolasi DNA *template*, amplifikasi PCR, dan visualisasi elektroforesis. Visualisasi produk PCR hasil elektroforesis sampel D8, D9, dan D11 memperlihatkan pita DNA yang tebal dan tunggal. Ketebalan pita DNA menunjukkan tingkat spesifisitas terhadap wilayah DNA yang ditargetkan (Prakoso *et al.*, 2017). Hasil visualisasi menunjukkan DNA berhasil diamplifikasi wilayah ITS dengan ukuran fragmen DNA target berkisar antara 700 bp – 900 bp.

Wilayah ITS digunakan sebagai DNA *barcode* genus *Durio* karena menunjukkan variasi nukleotida yang substansial. Wilayah ITS DNA inti menunjukkan variasi yang jauh lebih tinggi daripada *rbcL*, *matK*, dan *trnL-trnF* (Magandhi *et al.*, 2024). Hal ini menegaskan bahwa genom inti memiliki laju evolusi yang lebih cepat daripada genom kloroplas (Smith, 2015). Variasi nukleotida yang tinggi pada wilayah ITS karena frekuensi persilangan yang tinggi selama pembelahan sel dan proses rekombinasi (Cheng *et al.*, 2016).

Elektroforegram memperlihatkan nukleotida hasil *sequencing* berupa *peak* atau puncak nukleotida yang terdiri dari 4 warna yang berbeda. Warna berbeda tersebut masing-masing yaitu basa pirimidin (timin dan sitosin) dan basa purin (adenin dan guanin) (Untu *et al.*, 2015). Data sekuen terdapat nukleotida yang tidak terbaca saat proses *sequencing* seperti N (nukleotida kosong). Elektroforegram memperlihatkan kualitas sekuen yang diperoleh dan mutasi gen dari hasil *sequencing* sampel.

Data elektroforegram sekuen ITS D8 memiliki panjang basa yang berbeda antara sekuen *forward* 918 bp dan *reverse* 922 bp, sehingga dilakukan proses editing, penyejajaran, dan penggabungan sekuen. Hasil sekuen ITS D8 menunjukkan panjang basa 881 bp. Sekuen ITS D9 memiliki panjang basa yang hampir sama antara sekuen *forward* 673 bp dan *reverse* 674 bp, dilakukan proses yang sama seperti sampel sebelumnya hasilnya 291 bp. Sekuen D9 baik *forward* maupun *reverse* memiliki puncak landai dan puncak nuklotida saling tumpang tindih, sehingga pemotongan nuklotida menjadi sangat panjang. Hasil *sequencing* berupa *peak* yang tumpah tindih dan landai ada beberapa kemungkinan seperti residu kontaminasi DNA, primer yang tidak spesifik, dan produk PCR kualitas rendah. Hasil *sequencing* baik ditunjukkan dengan *peak* sangat tinggi dan terpisah satu sama lain, sedangkan hasil *sequencing* jelek ditunjukkan *peak* landai dan tidak terpisah satu sama lain atau puncak ganda pada kromatogram (Bangol *et al.*, 2014). Sekuen D11 memiliki panjang basa berbeda antara sekuen *forward* 602 bp dan *reverse* 689 bp, dilakukan

proses yang sama seperti sampel sebelumnya, hasilnya 670 bp. Sekuen *reverse* pada sampel D11 menunjukkan puncak yang saling tumpang tindih. Keberadaan puncak yang bervariasi pada kromatogram sampel menunjukkan adanya bagian sekuen yang tidak baik dan bagian yang baik (Untu *et al.*, 2015).

Sekuen ITS sampel *Durio* yang diperoleh dari hasil *sequencing* dalam bentuk dua file AB1 *forward* dan *reverse* dilakukan proses editing, penyejajaran, dan penggabungan untuk disimpan dalam bentuk format FASTA ditunjukkan pada Lampiran 3. Sekuen DNA format FASTA dimasukkan ke dalam BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) di NCBI *GenBank* untuk menentukan data *Durio* yang paling mirip dengan sampel. Format FASTA berisi baris definisi dan karakter dari sekuen yang dapat digunakan sebagai *input* untuk berbagai program analisis (Ostell & Wheelan, 2001).

Analisis sekuen hasil BLAST menggunakan nilai *percent identity*, *query cover* dan *max score*. Persentase *percent identity* menunjukkan tingkat kesamaan karakter dengan sekuen database yang

disejajarkan. Persentase *query cover* menunjukkan besar panjang nukleotida sampel yang disejajarkan dengan sampel database, sedangkan *max score* menunjukkan jumlah penyelarasan semua segmen sekuen database yang cocok dengan sekuen nukleotida sampel (Sogandi, 2018).

Analisis hasil BLAST sekuen sampel ITS D8 menunjukkan kemiripan tingkat tertinggi dengan dengan sekuen *D. zibethinus* (XM022880025.1) berdasarkan *percent identity* 99.43% dan *query cover* 100%. Sampel D9 menunjukkan kemiripan tertinggi dengan *D. graveolens* (OR631857.1) berdasarkan *percent identity* 91.41% dan *query cover* 100%. Sampel D11 menunjukkan kemiripan tertinggi dengan *D. lanceolatus* (OR631859.1) berdasarkan *percent identity* 86.59% *query cover* 100%. Berdasarkan hasil BLAST *Durio* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dapat disimpulkan sampel D8 (*D. zibethinus*), D9 (*D. graveolens*), dan D11 (*D. lanceolatus*).

Analisis *Multiple Aligment* pada sekuen ITS menunjukkan bahwa sekuen D8 memiliki panjang sekuen 881 bp yang lebih pendek dari sekuen *D.*

zibethinus (XM022880025.1) 1770 bp. Hasil pensejajaran sekuen D8 dengan *D. zibethinus* (XM022880025.1) ditemukan 5 perbedaan nukleotida atau *gap* dan sekuen dapat tersejajarkan pada panjang basa 180-1060 bp. Sekuen D9 memiliki panjang basa 291 bp yang lebih pendek dari sekuen *D. graveolens* (OR631857.1) 837 bp. Hasil pensejajaran sekuen D9 dengan *D. graveolens* (OR631857.1) ditemukan 21 perbedaan nukleotida dan sekuen dapat tersejajarkan pada panjang basa 550-838 bp. Sekuen D11 memiliki panjang basa 670 bp yang lebih pendek dari sekuen *D. lanceolatus* (OR631859.1) 848 bp. Hasil pensejajaran sekuen D11 dengan *D. lanceolatus* (OR631859.1) ditemukan 89 perbedaan nukleotida dan sekuen dapat disejajarkan pada panjang basa 182-851 bp.

2. Analisis Filogenetik Antar Spesies

Pohon filogenetik adalah susunan seperti pohon bercabang yang digunakan untuk menggambarkan data yang berkerabat dekat (Lubis, 2014). Analisis kekerabatan antar spesies dengan menggunakan metode rekonstruksi pohon filogenetik. Berdasarkan garis evolusi studi fiogenetik dengan

penanda molekuler yang dapat menganalisis hubungan kekerabatan antar kelompok organisme (Hidayat & Pancoro, 2019). Metode Kimura-2 dipilih untuk pembuatan filogenetik guna menentukan kesamaan sekuen dan memiliki keuntungan karena cepat dan sederhana dalam menganalisis sekelompok sekuen (Bhambri & Gupta, 2012). Nilai *bootstrap* 1000 dapat digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan terbentuknya pohon filogenetik, semakin tinggi nilai *bootstrap* maka semakin tinggi tingkat kepercayaannya. Tingkat kepercayaan nilai *bootstrap* di atas 90% dapat dipercaya, sedangkan nilai *bootstrap* 25% diragukan atau tidak dipercaya (Pangestika *et al.*, 2015). Analisis filogenetik bertujuan untuk mengetahui kladistika dan evolusi kekerabatan antar spesies dalam genus *Durio*.

Hasil analisis dalam pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel D8 terbentuk pada percabangan yang sama dengan *D. zibethinus* (XM022880025.1) pada pengulangan sebanyak 98% dan jarak genetik 0,0055 hal ini sesuai dengan hasil penyejajaran sekuen sehingga dapat

dipastikan sampel D8 yaitu *D. zibethinus*. Sampel D9 terbentuk pada percabangan yang sama dengan *D. dulcis* (AF287715.1) pada pengulangan 98% dan jarak genetik 0,0022. Sampel D11 membentuk cabang yang sama dengan *D. acutifolius* (OR631856.1) pada pengulangan 94% dan jarak genetik 0,0252. Hasil penyejajaran sampel D9 menunjukkan kemiripan dengan *D. graveolens* (OR631857.1), sedangkan hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan kekerabatan dengan *D. dulcis* (AF287715.1). Hasil penyejajaran sampel D11 menunjukkan kemiripan dengan *D. lanceolatus* (OR631859.1) sedangkan hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan kekerabatan dengan *D. acutifolius* (OR631856.1). Perbedaan hasil analisis terkait dengan penentuan spesies sampel D9 dan D11 hal ini bisa terjadi karena kurangnya database dalam NCBI yang mendekati sampel khususnya *region* ITS pada genus *Durio* dengan spesies yang jarang diidentifikasi, sehingga sampel menunjukkan kemiripan pada spesies database yang mendekati. Perbedaan dalam algoritma antara BLAST dan rekonstruksi pohon filogenetik

(MEGA) hal ini juga dapat mempengaruhi hasil dari kemiripan antara spesies sampel dan database.

Analisis kekerabatan sampel D9 antara *D. graveolens* dan *D. dulcis* keduanya merupakan jenis *Durio* liar yang dapat dikonsumsi dan berdasarkan kandungan biokimia berkerabat dekat yaitu dari kandungan lemak dan karotenoid dalam daging buah (Sujang *et al.*, 2024). *Durio dulcis* mempunyai nilai estetika dengan warna kulit buah yang merah menarik, sedangkan daging buah *D. graveolens* bervariasi warnanya, mulai dari kuning pucat hingga kuning tua, jingga, dan merah tua (Lim, 2012). Morfologi bagian bunga antara *D. graveolens* dan *D. dulcis* memiliki kemiripan seperti tipe bunga majemuk, bunga muncul pada cabang, bentuk kuncup bunga membulat, kelopak bunga menggenta, mahkota bunga menyudip, kepala benang sari mengginjal dan kepala putik mementol (Naufal, 2021). *Durio dulcis* adalah salah satu spesies *Durio* endemik yang berasal dari pulau Kalimantan (Hardarani *et al.*, 2023). *Durio graveolens* pusat penyebaran terbesar terdapat di

Kalimantan namun ditemukan juga di daerah lain seperti Sumatra dan Malaya.

Analisis kekerabatan sampel D11 antara *D. lanceolatus* dan *D. acutifolius* keduanya memiliki banyak perbedaan dalam bentuk morfologi bunga yaitu *D. lanceolatus* tipe bunga majemuk sedangkan *D. acutifolius* tipe bunga tunggal (Naufal, 2021). Karakter generatif pada spesies *Durio* sangat penting untuk melihat perbedaan yang spesifik antar spesies *Durio* karena pada karakter vegetatif terdapat banyak kemiripan sehingga kurang efektif (Nugroho *et al.*, 2020). *Durio lanceolatus* merupakan spesies *Durio* endemik di Kalimantan (Aprilianti, 2019). *Durio acutifolius* (Mast.) Kosterm. sinonim *Boschia griffithii* Mast. persebaran Kalimantan, Malaya, Sumatra, dan Thailand. Sampel D9 berasal dari Aceh, Sumatra memunculkan beberapa kemungkinan terhadap identitas spesiesnya.

Pengelompokan dalam pohon filogenetik terbagi 3 kelompok yakni monofiletik, parafiletik, dan polifiletik (Hermesen *et al.*, 2015). Pohon filogenetik yang dihasilkan bersifat monofiletik yang berarti pengelompokan organisme dengan melibatkan nenek moyang dan seluruh keturunannya, kelompok tersebut memiliki satu nenek moyang yang mewariskan sifat genetik, morfologi serta biokimia pada semua keturunannya. Kelompok monofiletik hubungan kekerabatan antar anggotanya sangat dekat satu sama lain (Hidayat & Pancoro, 2008). Hal ini terbukti dengan hasil pohon filogenetik yang terbentuk seluruh anggota dalam pohon filogenetik (kecuali *outgroup*) berasal dari genus yang sama yaitu genus *Durio*.

Analisis pohon filogenetik menggunakan metode *maximum likelihood* menggunakan model Kimura-2 menciptakan hubungan antarspesies berdasarkan panjang garis cabang. Panjang garis yang berbeda menunjukkan tingkat evolusi setiap spesies (Fitmawati *et al.*, 2013). Garis yang semakin panjang menunjukkan semakin jauh jarak

evolusinya sedangkan garis yang semakin pendek menunjukkan semakin dekat jarak evolusinya (Anafarida & Badruzsaufari, 2020). Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik, garis terpanjang dimiliki oleh *Durio* D11 dan *D. actifolius* (OR631856.1) dengan cabang terpanjang menunjukkan bahwa spesies ini memiliki sejarah evolusi yang panjang atau dianggap lebih primitif karena panjang cabang mendekati *outgroup*. *Outgroup* menunjukkan panjang cabang paling dasar dengan hubungan kekerabatan yang paling jauh dengan spesies yang diteliti. Cabang-cabang pada spesies lainnya yang lebih pendek menunjukkan bahwa memiliki evolusi cepat atau singkat dengan sifat lebih maju, sehingga dianggap sebagai keturunan dari nenek moyang yang sama.

Pohon filegentik memberi petunjuk dari 30 spesies database NCBI (*ingroup*) mengelompok berdasarkan kemiripan sekuen nukleotidanya. Persamaan dan perbedaan karakter yang dimiliki masing-masing spesies digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatannya. Tingkat evolusi yang telah berlangsung lama atau cepat

pada setiap spesies dapat dilihat dari panjang atau pendeknya cabang pohon filogenetik. Semakin panjang cabang menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan nenek moyang dengan sifat primitif atau kuno sedangkan semakin pendek cabang menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan keturunan spesies dengan nilai cabang yang panjang (Anafarida & Badruzsauhari, 2020).

3. Karakterisasi Morfologi *Durio* sp.

Identifikasi tumbuhan berdasarkan morfologi sulit dilakukan, terutama tumbuhan tropis seperti *Durio*. Individu dalam spesies yang sama dapat bervariasi secara morfologi berdasarkan usia dan kondisi pertumbuhannya, hal ini menyebabkan tumbuhan yang berkerabat dekat memiliki banyak kesamaan morfologi. Pengamatan karakter morfologi *Durio* sp. koleksi Kebun Raya Bogor hanya sebatas fase vegetatif bagian daun. Tidak adanya organ generatif pada sampel *Durio* membuat proses identifikasi menjadi sulit dan dapat menimbulkan keraguan dalam identifikasi sampel hingga tingkat spesies. Organ generatif penting untuk diamati karena memiliki tingkat

variasi morfologi yang tinggi (Irsyam *et al.*, 2021). Identifikasi molekuler penting dilakukan sebagai solusi dalam memberikan informasi lebih akurat dan dapat menghasilkan kelengkapan data tanaman.

Karakter morfologi pada tumbuhan dapat diamati secara langsung dibagi menjadi 2 yaitu makromorfologi dan mikromorfologi. Makromorfologi seperti akar, batang, daun, bunga, buah dan biji, sedangkan mikromorfologi seperti duri dan trikoma. Karakter morfologi digunakan untuk identifikasi karena mudah diamati, bersifat deskriptif dan spesimen herbarium (Susandarini, 2014). Karakter morfologi mempunyai kelemahan yaitu dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan umur fisiologis tanaman, sehingga harus didukung oleh karakter lain seperti karakter molekuler dan biokimia untuk mengetahui karakter genetik tanaman. (Ramlah *et al.*, 2023).

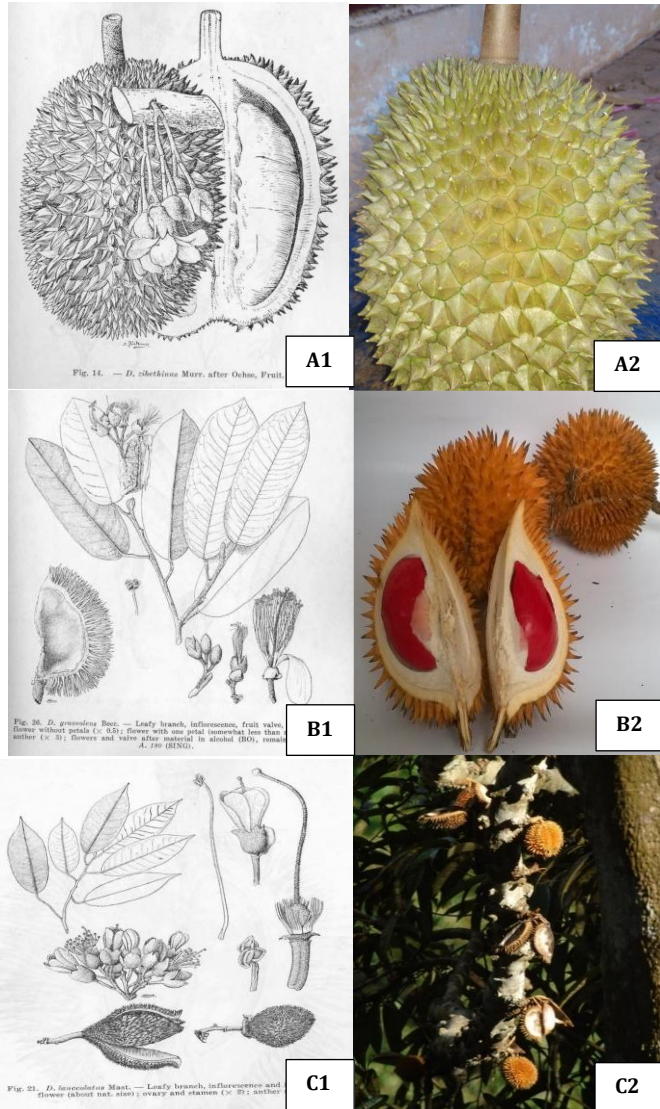
Data hasil pengamatan karakter morfologi tiga sampel daun *Durio* memiliki banyak kesamaan seperti tepi daun rata, susunan daun berselang-

seling, daun mengkilap, lapisan lilin, dan warna permukaan bawah daun coklat keperakan. Identifikasi spesies dengan karakterisasi morfologi memiliki berbagai keterbatasan (Wäldchen *et al.*, 2018). DNA *barcode* diperlukan sebagai pendekatan baru untuk mengungkap taksonomi tumbuhan dalam proses identifikasi. DNA *Barcoding* merupakan metode taksonomi untuk mengidentifikasi spesies dengan penanda genetik tertentu, sehingga merujuk suatu penamaan spesies (DeSalle & Goldstein, 2019). Menggabungkan karakteristik morfologi dengan DNA *barcoding* dapat membantu dalam identifikasi dan klasifikasi spesies (Kowalska *et al.*, 2018).

Secara umum, ciri-ciri daun *Durio* yakni bentuk helaian daun panjang dan bulat, permukaan atas daun berwarna hijau tua, permukaan bawah daun berwarna coklat keperakan, tangkainya menggelembung, serta pangkal daunnya membundar dan tumpul. (Pratiwi *et al.*, 2018). Menurut penelitian Setiawan (2015), daun *Durio* secara umum berbentuk bulat memanjang dengan ujung meruncing, susunan daunnya berseling,

tumbuh tunggal, struktur daun agak tebal, permukaan atas daun berwarna hijau mengkilap dan permukaan bawah daun berwarna coklat tembaga.

Sampel *Durio* koleksi Kebun Raya Bogor berasal dari Sumatra. Proses identifikasi menggunakan metode DNA *barcoding* lebih akurat dibandingkan dengan metode konvensional dengan karakter morfologi, hal ini berhubungan dengan umur fisiologis tanaman. Hasil identifikasi menggunakan DNA *barcoding* *Durio* koleksi Kebun Raya Bogor menunjukkan sampel D8 (*D. zibethinus*), D9 (*D. graveolens*), dan D11 (*D. lanceolatus*). Referensi awal sebagai pendukung terkait dengan gambaran morfologi hasil identifikasi sampel *Durio* tersebut sebagai berikut:



Gambar 4. 8 A1: *D. zibethinus*, B1: *D. graveolens*, C1: *D. lanceolatus* (Kostermans, 1958);
A2: *D. zibethinus* (Evita et al., 2023); B2: *D. graveolens* (Kurniadinata et al., 2020);
C2: *D. lanceolatus* (iNaturalist: 924306)

Referensi literatur gambar morfologi terkait dengan 3 spesies tersebut, sebagai data pendukung awal untuk menunjukkan karakteristik morfologi yang dimiliki, terutama pada fase generatif. Fase generatif pada genus *Durio* dapat digunakan untuk membedakan antar spesies. *Durio* sebagai tanaman musiman membutuhkan proses dan waktu yang tepat untuk melakukan identifikasi secara morfologi.

Durio zibethinus jenis yang banyak ditemukan di Indonesia dan dikonsumsi masyarakat karena memiliki rasa manis, bau menyengat, dan daging buah tebal. *Durio graveolens* pusat persebarannya di wilayah Kalimantan, namun ditemukan juga di Sumatra. Buahnya menarik daging buah berwarna merah menyala, kurang manis, dan bau kurang menyengat. Jenis *Durio* ini jarang dibudidayakan melainkan tumbuh secara liar di hutan. *Durio lanceolatus* merupakan salah satu jenis *Durio* endemik Kalimantan. *Durio* jenis ini dapat dikonsumsi, daging buah berwarna kuning, rasa hambar dan termasuk jenis *Durio* liar (Aprilianti, 2019).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan analisis data hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Sekuen ITS *Durio* sp. koleksi Kebun Raya Bogor sampel XIX.F.88, XVI.H.74, dan XVI.H.70 berhasil diamplifikasi pada wilayah ITS dengan panjang DNA target berkisar 700-900 bp. Hasil penyejajaran sampel XIX.F.88 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. zibethinus* (XM022880025.1). Sampel XVI.H.74 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. graveolens* (OR631857.1). Sampel XVI.H.70 memiliki kemiripan dengan sekuen *D. lanceolatus* (OR631859.1).
2. Analisis hubungan kekerabatan hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel XIX.F.88 membentuk percabangan yang sama dengan *D. zibethinus* (XM022880025.1). Sampel XVI.H.74 membentuk percabangan yang sama dengan *D. dulcis*

(AF287715.1). Sampel XVI.H.70 membentuk cabang yang sama dengan *D. acutifolius* (OR631856.1).

3. Karakteristik morfologi organ vegetatif, tiga sampel daun *Durio* memiliki banyak kesamaan seperti tepi daun rata, susunan daun berselang-seling, daun mengkilap, lapisan lilin, dan warna permukaan bawah daun coklat keperakan.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh terdapat beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Penelitian mengenai karakteristik morfologi khususnya organ generatif seperti bunga, buah, dan biji, serta dapat menambah karakteristik organ vegetatif bagian batang dan akar.
2. Penelitian DNA *Barcoding* kloroplas dengan menggunakan region seperti *rbcL*, *matK*, dan *psbA-trnH*.
3. Penelitian kembali terkait sampel yang hasil identifikasi terdapat kekurangan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Adit, A., Koul, M., Kapoor, R., & Tandon, R. (2022). Topological analysis of orchid-fungal endophyte interaction shows lack of phylogenetic preference. *South African Journal of Botany*, 143, 339–346.
- Agsten, A. &. (n.d.). *Karakteristik Morfologi Tumbuhan*. CV Budi Utama.
- Anafarida, O., & Badruzsaufari, B. (2020). Analisis Filogenetik Mangga (*Mangifera* Spp.) Berdasarkan Gen 5,8S Rrna. *Ziraa'Ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 45(2), 120. <https://doi.org/10.31602/zmip.v45i2.3001>
- 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.
- Aprilianti, P. (2019). Konservasi ex-situ *Durio* spp . di Kebun Raya Bogor (Jawa Barat) dan Kebun Raya Katingan (Kalimantan Tengah). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indonesia*, 5, 123–128. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050123>
- Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule* R.) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5862>
- Basith, A. (2015). Peluang gen *rbcl* sebagai DNA barcode berbasis DNA kloroplas untuk mengungkap keanekaragaman genetik padi beras hitam (*Oryza sativa* L.) lokal Indonesia Chances of the *rbcl* gene as DNA barcode based on chloroplast DNA to uncover

the genetika diversity of loc. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 938–941.

- Bhambri, P., & Gupta, O. P. (2012). Development of phylogenetic tree based on Kimura's Method. *Proceedings of 2012 2nd IEEE International Conference on Parallel, Distributed and Grid Computing, PDGC 2012*, November, 721–723. <https://doi.org/10.1109/PDGC.2012.6449910>
- Bioversity. (2007). *Descriptors for Durian (Durio zibethinus Murr.)*. Bioversity International.
- Brown, T. A. (2010). *Gene Cloning and DNA Analysis. An Introduction*. Wiley-Blackwell Published: Manchester.
- Camus, M. F., Alexander-Lawrie, B., Sharbrough, J., & Hurst, G. D. D. (2022). Inheritance through the cytoplasm. *Heredity*, 129(1), 31–43. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00540-2>
- 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>
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y., & Zhou, S. (2016). Barcoding the kingdom Plantae: New PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 138–149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>
- DeSalle, R., & Goldstein, P. (2019). Review and Interpretation of Trends in DNA Barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(September), 1–11.

<https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00302>

- Evita, E., Jasminarni, J., & Novita, T. N. (2023). Identifikasi Karakter Morfologi Tanaman Durian (*Durio zibethinus*) Lokal Kerinci. *Jurnal Ilmiah Ilmu Terapan Universitas Jambi*, 7(1), 45–49. <https://doi.org/10.22437/jiituj.v7i1.22177>
- Feng, J., Wang, Y., Yi, X., Yang, W., & He, X. (2016). Phenolics from durian exert pronounced NO inhibitory and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (21), 4273–4279.
- Fitmawati, Suwita, A., Sofiyanti, N., & Herman. (2013). Eksplorasi dan karakterisasi keanekaragaman plasma nutfah mangga (*Mangifera*) di Sumatera Tengah. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, September 2013*, 307–312.
- GBIF. (2024). *Durio Adans. GBIF Backbone Taxonomy*. <https://www.gbif.org/species/3152229>
- Ghazalli, M. N., Hashim, M. H., Besi, E. E., Mat-Esa, M. I., Zaini, A. Z., Saranum, M. M., Salleh, S., Jajuli, R., Md Sah, M. S., Talip, N., & Latiff, A. (2022). *Durio gerikensis* (Malvaceae), a new Arilless *Durio* from Hulu Perak, Malaysia. *Phytotaxa*, 543(1), 21–30. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.543.1.2>
- Hardarani, N., Zahra, S. N., Wahdah, R., & Juharni, J. (2023). Respon Eksplan Buku Durian Lahung (*Durio dulcis*) terhadap Konsentrasi BAP (Benzil Amino Purin) pada Media WPM (Woody Plant Medium). *Daun: Jurnal Ilmiah Pertanian Dan Kehutanan*, 10(2), 235–247. <https://doi.org/10.33084/daun.v10i2.6091>
- Hermesen, R., de Ligt, J., Spee, W., Blokzijl, F., Schäfer, S.,

- Adami, E., Boymans, S., Flink, S., van Boxtel, R., van der Weide, R. H., Aitman, T., Hübner, N., Simonis, M., Tabakoff, B., Guryev, V., & Cuppen, E. (2015). Genomic landscape of rat strain and substrain variation. *BMC Genomics*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1594-1>
- Hidayat, T., & Pancoro, A. (2019). Ulasan kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek. *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), 35–40.
- Hikmah, R. U., Retnoningsih, A., & Habibah, N. A. (2016). Keragaman Durian Berdasarkan Fragmen Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA Ribosomal Melalui Analisis PCR-RFLP. *Jurnal MIPA*, 39(1), 11–18. <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM>
- Hikmatyar, M. F., Royani, J. I., & . D. (2015). Isolasi Dan Amplifikasi Dna Keladi Tikus (*Thyponium flagelliform*) Untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 2(2), 42. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v2i2.507>
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE*, 6(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>
- Hung, C. L., Lin, Y. S., Lin, C. Y., Chung, Y. C., & Chung, Y. F. (2015). CUDA ClustalW: An efficient parallel algorithm for progressive multiple sequence alignment on Multi-GPUs. *Computational Biology and Chemistry*, 58, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2015.05.004>
- Huyen, T., Vu, T., Le, T. L., Nguyen, T. K., & Tran, D. D. (2017).

E-review DNA barcoding. 59(2), 62–75.

Irsyam, A. S. D., Hariri, M. R., Widiyanti, P., & Irwanto, R. R. (2021). Short communication: Note on the genus *dorstenia* plum. ex L. (moraceae) in java (indonesia) and noteworthy information on the identity of *D. bahiensis* through ITS sequence. *Biodiversitas*, 22(8), 3358–3363.

<https://doi.org/10.13057/biodiv/d220832>

Kementerian Agama Republik Indonesia. (2022). *Tafsir Al-Qur'an: Pedoman dan Aplikasi*.
<https://quran.kemenag.go.id/>

Kojong, E., Ogie, T. B., Porong, J. V., Rotinsulu, W. C., Tumbelaka, S., Paat, F. J., & Nangoi, R. (2023). Karakteristik morfologi tanaman jahe merah (*zingiber officinale* var. *rubrum*) lokal di kecamatan poso pesisir provinsi sulawesi tengah. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 4(2), 301–310.

Koryati, T., Ningsih, H., Erdiandini, I., Paulina, M., Figiyanto, R., Junairiah, & Sari, V. K. (2022). Pemuliaan Tanaman. In *Pemuliaan Tanaman*.
https://www.researchgate.net/publication/366006081_FullBook_Pemuliaan_Tanaman

Kostermans, A. J. G. . (1958). The genus *Durio* Adans. (Bombac.). In *Reinwardtia* (Vol. 4, Issue 3, pp. 47–153).

Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcl* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. *PLoS ONE*, 2(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>

- Krismawati, A. (2016). Keunggulan dan Potensi Pengembangan Sumber Daya Genetik Durian Kalimantan Tengah. *Buletin Plasma Nutfah*, 18(2), 70. <https://doi.org/10.21082/blpn.v18n2.2012.p70-76>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kurniadinata, O. F., Wenpei, S., & Rusdiansyah, R. (2020). Morphological Characteristics of Batuah Red-Fleshed Durian (*Durio graveolens*), an Endemic Exotic Plant from East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Tropical Horticulture*, 3(1), 12. <https://doi.org/10.33089/jthort.v3i1.39>
- Lubis, K. (2014). Cara pembuatan pohon filogeni. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 20(75), 66–69.
- Magandhi, M., Sobir, Wahyu, Y., Sudarmono, & Matra, D. D. (2024). Dna Barcoding of Endemic Durian Kura-Kura in West Kalimantan, Indonesia. *Sabrao Journal of Breeding and Genetics*, 56(5), 1799–1810. <https://doi.org/10.54910/sabrao2024.56.5.5>
- Mardudi, M., Selviyanti, E., & Suwardi, A. B. (2021). Durian variety (*Durio zibethinus* L.) in Kota Bahagia District, South Aceh, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 42–51. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2361>
- Matra, D. D., Fathoni, M. A. N., Majiidu, M., Wicaksono, H., Sriyono, A., Gunawan, Susanti, H., Fitmawati, Sari, R., Siregar, I. Z., & Poerwanto, R. (2021). Genomic Data Reveal the Genetic Variation among Natural *Mangifera Casturi* Kosterm. Hybrids, an Underutilized

- Fruit Tree Under 'Extinct in Wild' Status from Kalimantan Selatan, Indonesia. *Research Square*, 1–18. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-258288/v1>
- Mudiana, D., & Ariyanti, E. E. (2020). Karakterisasi Morfologi Juwet (*Syzygium cumini* [L.] Skeels.) di Kebun Raya Purwodadi. *Buletin Plasma Nutfah*, 26(1), 11. <https://doi.org/10.21082/blpn.v26n1.2020.p11-20>
- Mursyidin, D. H., Makruf, M. I., Badruzsaufari, & Noor, A. (2022). Molecular diversity of exotic durian (*Durio spp.*) germplasm: a case study of Kalimantan, Indonesia. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00321-8>
- Mursyidin, D. H., Makruf, M. I., Fitri, M., & Aliannur, N. (2023). *Genetic Diversity and Relationship of Durian (Durio spp .) Germplasm Based on the Internal Transcribed Spacer (ITS) Region : In Silico Analysis*. 11(1), 1–10.
- Naufal, D. I. (2021). *Studi filogenetika Durio di Kalimantan berdasarkan karakter morfologi bunga*. 1–114.
- Ndruru, I. F., Saleha Hannum, & Suci Rahayu. (2023). Genetic Diversity of Durian (*Durio zibethinus* Murr.) from North and South Nias using Simple Sequence Repeat (SSR). *International Journal of Ecophysiology*, 5(2), 69–75. <https://doi.org/10.32734/ijoep.v5i2.14314>
- Nugroho, F. A., Sobir, & Matra, D. D. (2020). Prosiding PERHORTI 2020. In *Perhimpunan Hortikultura Indonesia* (Issue November).

- Ostell, J. M., S. J. Wheelan., and J. A. K. (2001). *The NCBI Data Model*. In: A. D. Baxevanis & B. F. F. Ouellette (Eds.). *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Second Edition. John Wiley & Sons.
- Overbergh, L., Vig, S., Coun, F., & Mathieu, C. (2017). *Quantitative Polymerase Chain Reaction In Molecular diagnostics*. Academic Press.
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., & Kusumaningrum, H. P. (2015). Analisis filogenetik Curcuma zedoaria (temu putih) berdasarkan gen internal transcribed spacer (ITS). *Jurnal Biologi*, 4(4), 8–13.
- POWO. (2024). *Durio Royal Botanic Gardens KEW: Plants of The World Online*.
<https://powo.science.kew.org/results?q=Durio>
- Prakoso, S. P., Wirajana, I. N., & Suarsa, I. W. (2017). Amplifikasi Fragmen Gen 18S rRNA Pada DNA Metagenomik Madu Dengan Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences (IJLFS)*, 7(March), 1.
<https://doi.org/10.24843/ijlfs.2017.v07.i01.p03>
- Pratiwi, N., Hanafiah, D. S., & Siregar, L. A. M. (2018). (2018). Identifikasi Karakter Morfologis Durian (*Durio Zibethinus Murr*) Di Kecamatan Tigalingga Dan Pegagan Hilir Kabupaten Dairi Sumatera Utara. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 6(2), 200–208.
- Priyanti. (2012). Keanekaragaman Tumbuhan *Durio* spp. Menurut Perspektif Lokal Masyarakat Dayak. *Widya*, 29(319), 45–52.
<https://www.neliti.com/publications/218678/keaneekaragaman-tumbuhan-durio-spp-menurut-perspektif-lokal-masyarakat-dayak#cite>

- Ramlah, R., Indrastuti, I., A. Karim, H., & Pabendon, M. B. (2023). Karakteristik Morfologi Jewawut (*Setaria italica* L.) INDONESIA. *AGROVITAL: Jurnal Ilmu Pertanian*, 8(2), 186. <https://doi.org/10.35329/agrovital.v8i2.4868>
- Rana, B., & Joshi, G. K. (2023). *Electrophoresis: Basic principle, types, and applications. In Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship (pp. 183-193)*. Academic Press.
- Riupassa, P. A., Miftahudin, Suharsono, & Chikmawati, T. (2016). Species-specific loci of three indonesian durio inferred from ISSR fingerprinting. *Annual Research and Review in Biology*, 10(5), 1–11. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2016/27375>
- Rusydina, D. S. (2023). KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN DNA BARCODING *Durio macrantha* Kosterm. KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Santoso, P. J., Indriyani, N. L. P., Istianto, M., Pancoro, A., & Aryantha, I. N. P. (2017). Phylogeny of Indonesian durian (*Durio* sp.) germplasm based on polymorphism of ITS-nrDNA sequences. *Acta Horticulturae*, 1186, 35–41. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1186.5>
- Shetty, P. (2020). The Evolution of DNA Extraction Methods. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 8(1), 39–45.

<https://doi.org/10.34297/ajbsr.2020.08.001234>

- Shneyer, V. S. (2009). DNA barcoding is a new approach in comparative genomics of plants. *Russian Journal of Genetics*, 45(11), 1267–1278. <https://doi.org/10.1134/S1022795409110027>
- Shneyer, V. S., & Rodionov, A. V. (2019). Plant DNA Barcodes. *Biology Bulletin Reviews*, 9(4), 295–300. <https://doi.org/10.1134/s207908641904008x>
- Smith, D. R. (2015). Mutation rates in plastid genomes: They are lower than you might think. *Genome Biology and Evolution*, 7(5), 1227–1234. <https://doi.org/10.1093/gbe/evv069>
- Su'udi, M., Ramadany, Z., Rohimah, S., Arum, A. Y., Setyati, D., & Ulum, F. B. (2023). Peran Mini-Barcode Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) untuk Identifikasi Molekuler Spesies Anggrek. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 7(1), 34–45. <https://doi.org/10.47007/ijobb.v7i1.166>
- Sujang, G. B., Ramaiya, S. D., Lee, S. Y., & Zakaria, M. H. (2024). Characterization of indigenous Durio species from Sarawak, Borneo: relationships between chemical composition and sensory attributes. *PeerJ*, 12(8), 1–26. <https://doi.org/10.7717/peerj.17688>
- Sun, Y., Skinner, D. Z., Liang, G. H., & Hulbert, S. H. (1994). Phylogenetic analysis of Sorghum and related taxa using ITS. In *Theoretical and Applied Genetics* (Vol. 89, pp. 26–32).
- Suryani, R., & Owbel, -. (2020). Pentingnya Eksplorasi dan Karakterisasi pada Tanaman Pisang sehingga Sumber Daya Genetik Tetap Terjaga. *Agro Bali: Agricultural*

- Journal*, 2(2), 64–76.
<https://doi.org/10.37637/ab.v2i2.410>
- Sutrisna, D. (2020). Kebun Raya Bogor Dan Fasilitasnya, Sejarah Dan Fungsi Di Masa Lalu Dan Kini. *Panalungtik*, 3(2), 129–141.
<https://doi.org/10.24164/pnk.v3i2.37>
- Suwardi, A. B., Syamsuardi, Mukhtar, E., & Nurainas. (2023). Potential Geographic Distribution of *Durio oxleyanus* (Malvaceae): a Threatened Wild Fruit Plant Species in Sumatra, Indonesia. *Polish Journal of Environmental Studies*, 32(3), 2845–2853.
<https://doi.org/10.15244/pjoes/161669>
- Syamsuardi, Fijridiyanto, I. A., Vauzia, Munir, E., Suwardi, A. B., & Kardiman, R. (2024). Ethnobotany and local conservation of *Durio graveolens* Becc. (Malvaceae): A threatened wild edible fruit plant in Sumatra, Indonesia. *Ethnobotany Research and Applications*, 28, 1–11. <https://doi.org/10.32859/era.28.28.1-11>
- Szczesny, R. J., Kowalska, K., Klosowska-Kosicka, K., Chlebowski, A., Owczarek, E. P., Warkocki, Z., Kulinski, T. M., Adamska, D., Affek, K., Jedroszkowiak, A., Kotrys, A. V., Tomecki, R., Krawczyk, P. S., Borowski, L. S., & Dziembowski, A. (2018). Versatile approach for functional analysis of human proteins and efficient stable cell line generation using flp-mediated recombination system. *PLoS ONE*, 13(3), 1–29.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194887>
- Untu, P., Rumengan, I. F. M., & Ginting, E. L. (2015). Identifikasi Mikroba yang Koeksis Dengan *Ascidia Lissoclinum patella* Menggunakan Sekuens Gen 16S rRNA. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 3(2), 23.

<https://doi.org/10.35800/jplt.3.2.2015.10110>

- Virgilio, M., Jordaens, K., Breman, F. C., Backeljau, T., & de Meyer, M. (2012). Identifying insects with incomplete DNA barcode libraries, African fruit flies (Diptera: Tephritidae) as a test case. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031581>
- Wäldchen, J., Rzanny, M., Seeland, M., & Mäder, P. (2018). Automated plant species identification—Trends and future directions. *PLoS Computational Biology*, 14(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005993>
- Widiya, M., Jayati, R. D., & Fitriani, H. (2019). Karakteristik Morfologi dan Anatomi Jahe (*Zingiber Officinale*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 2(2), 60–69. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v2i2.854>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



Pengambilan sampel



Ekstraksi DNA



Amplifikasi PCR



Elektroforesis



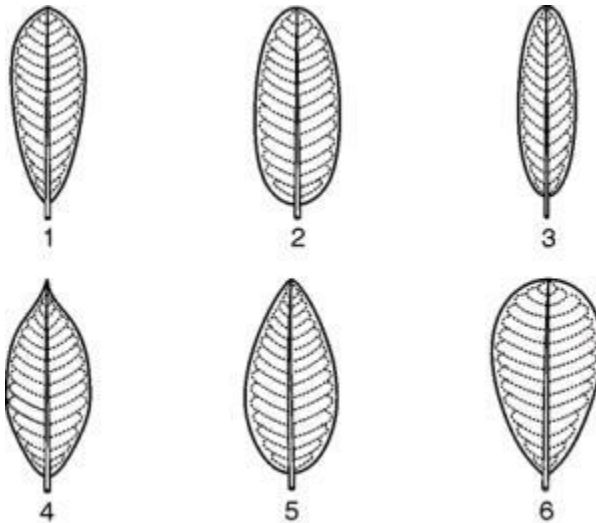
Visualisasi DNA



Pengamatan
morfologi

Lampiran 2. Parameter Karakterisasi Morfologi Daun *Durio*
Bentuk helain daun

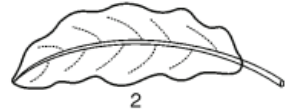
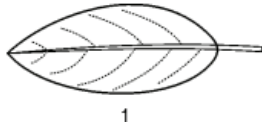
1. Membundar telur-melanset
2. Melonjong
3. Linier-lonjong
4. Elips
5. Bulat telur
6. Membundar telur
7. Lainnya



Gambar. Bentuk helain daun

Tepi daun

1. Rata
2. Bergelombang



Gambar. Tepi daun

Panjang daun (cm)

1. Pendek ($<10,0$ cm)
2. Menengah ($10,1 - 15,0$ cm)
3. Panjang ($15,1 - 25,0$ cm)
4. Sangat panjang ($>25,0$ cm)

Lebar daun (cm)

1. Sempit ($<3,0$ cm)
2. Menengah ($3,1 - 6,0$ cm)
3. Lebar ($6,1 - 9,0$ cm)
4. Sangat besar ($>9,0$ cm)

Kondisi tangkai

1. Normal
2. Gembung

Warna permukaan daun atas

1. Hijau muda
2. Hijau

3. Hijau tua
4. Hijau kecoklatan
5. Lainnya

Warna permukaan daun bawah

1. Coklat keperakan
2. Coklat tembaga
3. Lainnya

Tekstur daun

1. Halus
2. Kasar
3. Sangat kasar

Kilapan daun permukaan atas dan bawah

1. Tidak mengkilap
2. Mengkilap

Lapiran lilin pada daun adaksial

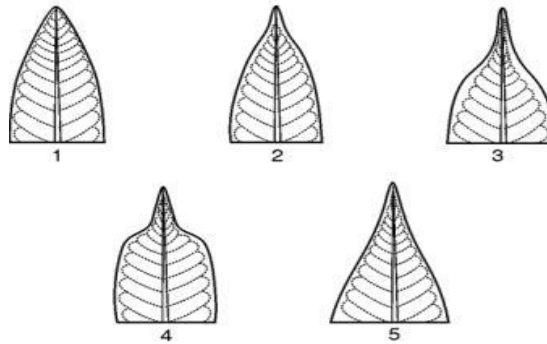
1. Kusam
2. Berkilau

Bentuk ujung daun

1. Meruncing
2. Melancip
3. Melancip panjang
4. Berekor

5. Runcing

6. Lainnya



Gambar. Bentuk ujung daun

Bentuk pangkal daun

1. Bulat

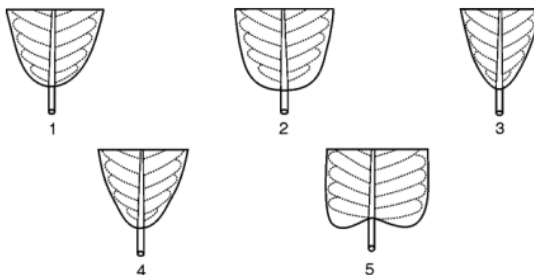
2. Tumpul

3. Meruncing

4. Runcing

5. Bentuk hati

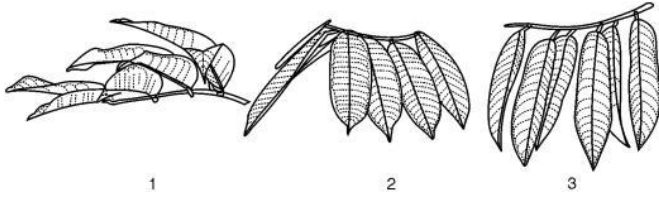
6. Lainnya



Gambar. Bentuk pangkal daun

Sikap daun

1. Semi tegak
2. Terkulai 45°
3. Menjatuh secara vertikal



Gambar. Sikap daun

Susunan daun

1. Berselang-seling
2. Berhadapan

Lampiran 3. FASTA Sampel ITS Durio

> D8 (XIX.F.88)

GGTGAAGTGTTCGGATCGCGGCGACGCGGACGGTCCGCCGC
CCGCGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGA
GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGC
GGAAGGATCATTGTCTGAAACCCCGCTCGACGGACGACCCGC
GGACGCGTTAACGAAACACCGAGGGGGCGGGGTGCCCCCG
CGCCCCGAGCCCCCTCCGGCCCCAGGGAGGGCGCGACGGTCG
CTTCGTCCCCCCTACGGGGCGGGCGGAACGATCGGCGTCGT
CCCGCCCTCCGCCGAACAACGAACCCCCGGCGCGAATCGCG
CCAAGGAACCGAAACGAAACGGAGCGCGCGCGCCGTCTGCC
ATCCCGTCCGCGGTGCGTGCGCGGCGGGCGCCGCGACTCCTT
TTGTCTCGGAAAAACGAAACGACTCTCGGCAACGGATATCT
CGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGA
ACGCAAGTTGCGCCCCAAGCCATTAGGCCGAGGGCACGCCT
GCCTGGGTGTCATGCACCGTCGCCCCCCTCCGACCCCCCG
CCCTCCGGGCTCCGGGGGAAGGGGGCGGGCGGAAGATGGCC
TCCCGCGATCCCGTGGGTCTGCGGTTGGCCAAAAGCGAGTC
CCCGGCAACGACAGCGCCGTGACCGTCGGTGGTGGACCTCC
CGACGTGCCTCGTCCCCGGTGACGCGCGCTCGTTGCCCTTC
CGGACCCCTTCGGACCCACCGCATCGGTTCGATCGATGCTCG
CGTCGCGACCCAGGTCAGGCGGGATCACCTCTGAGTTTA
AGCATATCAATAAGCGGAGG

> D9 (XVI.H.74)

CCCCCCTCCGACCCCCCGCCCCCTCGGGCTCCGGGGGAAGG
GGGCGGGCGGAAGATGGCCTCCCGCGATCCCGTGGGTCTCG
GTTGGCCAAAAGCGAGTCCCGGCAACGACAGTCCCGTGA
CCGTTGTCTGTAGAAGTACCGACGTGTCTTATCCCCGGTGA
CGCGCGCTAGTTTTCCAAACGGACCCCTTTGGACCCCCCG
CATCGCTAGGTCCATGCTCGCGTTTACGCGACCCCAGGTCA
GGCGGGATCACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGA
GGAA

> D11 (XVI.H.70)

CCTCCGGCCCCGGGCGGGCGCGACGGTCGCTTCGTCCCCC
TACCGGGCGGGCGGAACGATCCGCGTCGTCTCGCCCGTTGT
CGAACAAACGAACCCCCGGCGCGAATCGCGCCAAGGAACCGA
AACGAAAAACGGAGCGCGCGCGCCGTGCCATCCCGTTCGC
GGTGCGTGCGCGGGCGGGCGCCGCGACTCCTTTTGTGCGCGAA
AAAATCGAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGC
ATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACCCGGTACGACT
CGCAAAATCCCCTGAACCATCGAGTCTTTGAAAGCAAGGAG
AACCCCTAACCAGGATTCCGAAGGCGAACCTGCGGAGGGAT
CATGCGCCGTCACCCCGTTTCGACCGACCGCCCGTGGACGTG
TTAACGAAGCGCCAGGGGGAAAAGGTGCTCCCGCGACCCC
GTCAGTCCCGTCCGGCCCCAGGGGGAGTCGCCGGCAGCTTC
AGCCCCGTTACCGTGGGTGGCGGAACGATCCGCGTGCCCTCT
TCCCCGGTGACGAGCGACTAATCCTCCGCGCGGACCCCGTC
GGGCACCCGCAACGCTCGGTCGAATGCTCGCGTGCGGACCC
CAGGTCAGGCGGGATCACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAAT
AAGCGGAGGAAAAG

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama Lengkap : Nur Fadilatun Nikmah
Tempat/Tanggal Lahir: Way Kanan, 28 November 2002
Alamat : Dusun Tulang Agung, RT/RW
002/002, Desa Donomulyo, Kec. Banjit,
Kan. Way Kanan, Lampung
Telp/HP : 081271406156
Email : nikmahnur176@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

SDN 01 Donomulyo lulus tahun 2015
SMPN 02 Banjit lulus tahun 2018
MAN 01 Lampung Tengah lulus tahun 2021
UIN Walisongo Semarang lulus tahun 2025