

**KARAKTERISASI SEKUEN DNA *INTERNAL TRANSCRIBED
SPACER (ITS)* pada *Homalomena pexa***

SKRIPSI

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



Oleh: *Risqi Aprilianingsih*

NIM: 1808016018

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2021**

**KARAKTERISASI SEKUEN DNA *INTERNAL TRANSCRIBED
SPACER (ITS)* pada *Homalomena pexa***

SKRIPSI

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



Oleh: Risqi Aprilianingsih

NIM: 1808016018

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2021**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Risqi Aprilianingsih

NIM : 1808016018

Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

KARAKTERISASI SEKUEN DNA *INTERNAL TRANSCRIBED SPACER* *Homalomena pexa*

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

Semarang, 27 Desember 2021

Pembuat Pernyataan



Risqi Aprilianingsih

1808016018



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

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer* (ITS) pada *Homalomena pexa*

Penulis : **Risqi Aprilianingsih**

NIM : 1808016018

Jurusan : S1 Biologi

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

Semarang, 30 Desember 2021

DEWAN PENGUJI

Penguji I,

Baiq Farhatul Wahidah, M.Si.
NIP. 197502222009122002

Penguji II,

Muhammad Rifqi H., M.Si.
NIP. 199005212018011004

Penguji III,

Dr. Ling. Rusmadi, M.Si.
NIDN. 2026018302

Penguji IV,

Alfia Sari Mukaromah, M.Sc.
NIP. 198709112018012001

Pembimbing I,

Baiq Farhatul Wahidah, M.Si.
NIP. 197502222009122002

Pembimbing II,

Muhammad Rifqi H., M.Si.
NIP. 199005212018011004

NOTA DINAS

Semarang, 27 Desember 2021

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

Assalamu'alaikum wr. wb.

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

Judul : **Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer Homalomena pexa***
Nama : Risqi Aprilianingsih
NIM : 1808016018
Jurusan : Biologi

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

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing I,



Baiq Farhatul Wahidah, M.Si

NIP: 197550222200912 2 002

NOTA DINAS

Bogor, 27 Desember 2021

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

Assalamu'alaikum. wr. wb.

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

Judul : **Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer Homalomena pexa***

Penulis : **Risqi Aprilianingsih**

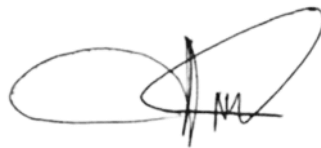
NIM : 1808016018

Jurusan : S1 Biologi

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

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing II,



Muhammad Rifqi Hariri, M.Si

NIP. 199005212018011004

Motto

خير الناس أنفعهم للناس

Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi manusia lain.

ABSTRAK

Homalomena pexa merupakan tumbuhan spesies baru yang ditemukan dan dideskripsikan pada awal tahun 2020. Penelitian molekuler mengenai karakterisasi DNA *H. pexa* penting untuk dilakukan karena hingga saat ini keberadaanya hanya dilaporkan dari Tapanuli Selatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi sekuen ITS *H. pexa* dan mengetahui posisinya dalam sebuah pohon filogenetik famili Araceae. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Februari 2021. Sampel *H. pexa* diambil dari rumah kaca Laboratorium Treub Kebun Raya Bogor. Tahapan penelitian yang dilakukan terdiri dari pengambilan sampel, penggerusan sampel, ekstraksi DNA, proses PCR, elektroforesis, visualisasi hasil elektroforesis, sekuensing DNA, dan analisis data hasil sekuensing. Hasil karakterisasi sekuen ITS *H. pexa* memiliki panjang 1040 bp dengan persentase komposisi basa nukleotida T:13, 55 %, C: 35,40%, A: 16, 50%, G: 34, 53%. Pohon filogenetik yang dikonstruksi menggunakan metode Neighbor Joining menunjukkan bahwa *H. pexa* mengelompok dengan *Homalomena atrox* dan *Homalomena humilis* nilai *bootstrap* 91%.

Kata kunci: *Homalomena pexa*, Karakterisasi sekuen, kekerabatan.

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab Latin dalam skripsi ini berpedoman pada (SKB) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor : 158 Tahun 1987 dan Nomor : 0543b/U/1987.

Konsonan

Daftar huruf bahasa Arab dan transliterasinya kedalam huruf Latin dapat dilihat pada halaman berikut:

Huruf Arab	Nama	Huruf Latin	Nama
ا	Alif	Tidak dilambangkan	Tidak dilambangkan
ب	Ba	B	Be
ت	Ta	T	Te
ث	Śa	Ś	Es (dengan titik diatas)
ج	Jim	J	Je
ح	Ha	H	Ha (dengan titik dibawah)
خ	Kha	Kh	Ka dan Ha
د	Dal	D	De
ذ	Żal	Ż	Zet (dengan titik diatas)

ر	Ra	R	Er
ز	Zai	Z	Zet
س	Sin	S	Es
ش	Syin	Sy	Es dan Ye
ص	Sad	Ṣ	Es (dengan titik dibawah)
ض	Dad	Ḍ	De (dengan titik di bawah)
ط	Ta	Ṭ	Te (dengan titik di bawah)
ظ	Za	Ẓ	Zet (dengan titik dibawah)
ع	Ain	-	Apostrof terbalik
غ	Gain	G	Ge
ف	Fa	F	Ef
ق	Qof	Q	Qi
ك	Kaf	K	Ka
ل	Lam	L	El
م	Mim	M	Em
ن	Nun	N	Ea
و	Wau	W	We
ه	Ĥa	Ĥ	Ĥa (dengan titik di atas)

ء	Hamzah	-	Apostrof
ي	Ya	Y	Ye

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang senantiasa terlimpahkan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer (ITS)* pada *Homalomena pexa*”** sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S-1) pada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan inspirasi dan menuntun umat manusia menuju jalan yang lurus serta menjadi anugerah terbesar bagi seluruh alam semesta. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan serta dukungan berbagai pihak. Sehingga pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua yaitu Bapak Subianto dan Ibu Sunarni yang senantiasa memberikan dukungan serta do'a yang selalu dipanjatkan dengan tulus atas kelancaran dalam menyelesaikan perkuliahan serta penulisan skripsi;

2. KH. M Thohir AH, Romo Kyai Pondok Pesantren Raudlotul Qur'an yang telah mendidik saya secara moral untuk menjadi pribadi yang lebih baik lagi;
3. Prof. Dr. H. Imam Taufiq, M.Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
4. Dr. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
5. Baiq Farhatul Wahidah. M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi dan Dosen Pembimbing Skripsi I yang telah berkenan memberikan tambahan ilmu dan bimbingan selama proses penyusunan skripsi;
6. M. Rifqi Hariri, M.Si., Selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak memberikan arahan dalam penyusunan skripsi mulai dari penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini;
7. Laboratorium Treub BRIN Kebun Raya Bogor, yang telah memberikan izin dan kesempatan untuk penulis melaksanakan penelitian;
8. Arnia Sari Mukarromah, M.Sc., selaku dosen wali yang senantiasa meberikan bimbingan selama perkuliahan;
9. Devi Oktavia, Rifqinur Mahmudah, M.Ramdhani Arfan, Fauzi Akbar, teman KP dan penelitian yang senantiasa mensuport;

10. Teman-teman seperjuangan dari keluarga Biologi 2018 (BIOSINAPSIS) sebagai tempat berbagi cerita selama perkuliahan dan senantiasa memberikan dukungan, semangat serta doa.

Semoga semua yang telah diberikan kepada penulis, mendapatkan balasan dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran guna menjadikan skripsi ini lebih baik. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, pembaca, serta masyarakat. Aamiin.

Semarang, 27 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	
Error! Bookmark not defined.	
PERNYATAAN KEASLIAN	
Error! Bookmark not defined.	
PENGESAHAN.....	
Error! Bookmark not defined.	
NOTA DINAS	
Error! Bookmark not defined.	
HALAMAN MOTTO	vi
ABSTRAK.....	vii
TRANSLITERASI.....	ix
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
Error! Bookmark not defined.	
A. Latar Belakang	
Error! Bookmark not defined.	
B. Rumusan Masalah	
Error! Bookmark not defined.	
C. Tujuan Penelitian	

Error! Bookmark not defined.

D. Manfaat Penelitian

Error! Bookmark not defined.

BAB II LANDASAN PUSTAKA

Error! Bookmark not defined.

A. Kajian Teori.....

Error! Bookmark not defined.

1. *Homalomena pexa*

Error! Bookmark not defined.

2. *DNA Barcoding*

Error! Bookmark not defined.

3. *Internal Transcribed Spacer*

Error! Bookmark not defined.

4. Konservasi Genetik..... 17

5. Perspektif Tumbuhan dalam Islam..... 19

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Error! Bookmark not defined.

C. Hipotesis.....

Error! Bookmark not defined.

BAB III METODE PENELITIAN

Error! Bookmark not defined.

A. Tempat dan Waktu Penelitian.....

Error! Bookmark not defined.

B. Alat dan Bahan.....

	Error! Bookmark not defined.	
1.	Alat	
	Error! Bookmark not defined.	
2.	Bahan.....	
	Error! Bookmark not defined.	
C.	Metode	
	Error! Bookmark not defined.	
1.	Pengambilan Sampel.....	
	Error! Bookmark not defined.	
2.	Ekstraksi DNA.....	26
3.	Amplifikasi DNA.....	28
5.	Elektroforesis.....	29
6.	Analisis Data	
	Error! Bookmark not defined.	
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	53
A.	Deskripsi Hasil Penelitian	
	Error! Bookmark not defined.	
B.	Pembahasan Hasil Penelitian	41
BAB V	SIMPULAN DAN SARAN	55
A.	Simpulan	55
B.	Saran	55
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN.....		63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....		82

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kode Primer.....

Error! Bookmark not defined.

Tabel 4.1 Hasil BLAST sekuen *H.pexa*..... 35

Tabel 4.2 Komposisi sekuen nukleotida *H.pexa*..... 40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	<i>Homalomena pexa</i>	9
Gambar 3.1	Peta Laboratorium Treub.....	24
Gambar 3.2	Daerah <i>region</i> target ITS.....	Err
	or! Bookmark not defined.	
Gambar 4.1	Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR dari sampel <i>Homalomena pexa</i> sekuen <i>Internal Transcribed Spacer</i>	Err
	or! Bookmark not defined.	
Gambar4.2	Kromatogram parsial hasil sekuensing <i>H.pexa</i>	33
Gambar 4.3	Hasil BLAST sekuen <i>H.pexa</i>	35
Gambar 4.4	Konstruksi pohon filogenetik <i>H.pexa</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen <i>H. pexa</i> hasil sekuensing.....	64
Lampiran 2. MAS <i>H.pexa</i> , <i>H.humilis</i> , <i>H.atrox</i>	68
Lampiran 3. Tabel jarak genetik	75
Lampiran 4 . Perbedaan basa nukleotida antar sekuen	78
Lampiran 5. Perbedaan basa nukleotida <i>H.pexa</i>	78
Lampiran 6. Tabel <i>aligment pairwise</i>	79
Lampiran 7. Sampling <i>H.pexa</i> di rumah kaca.....	80
Lampiran 8. Penggerusan sampel daun <i>H.pexa</i>	81
Lampiran 9. Proses elektroforesis	81
Lampiran 10. Hasil BLAST.....	82
Lampiran 11. Proses <i>contig</i> menggunakan <i>codoncode</i>	82

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Famili Araceae merupakan salah satu jenis tumbuhan herba yang hidup di darat, di tepi yang lembab, perairan (akuatik) dan merambat pada pohon (epifit) (Hutasuhut, 2020). Spesies Araceae banyak tumbuh di habitat teresterial dengan lingkungan yang lembab, seperti pada lantai hutan, tepi sungai maupun bebatuan, sedangkan jenis-jenis yang hidup di air biasanya tumbuh mengapung, tenggelam, ataupun sebagian bagian tumbuhan tenggelam di air (Harahap, 2020).

Famili Araceae memiliki kurang lebih 110 genus dan 3700 spesies yang tersebar di kawasan tropis yaitu di daerah Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Sebanyak 25% dari total genus di dunia dapat ditemukan tersebar di kawasan Sumatra, Jawa, Sulawesi, dan Papua. Beberapa genus yang cukup terkenal dari Araceae diantaranya adalah *Alocasia*, *Caladium*, *Epipremnum*, *Homalomena*, *Philodendron*, dan *Scindapsus*. Dari keenam genus tersebut, *Homalomena* menduduki peringkat ketiga dengan jumlah spesies yang banyak (Kurniawan *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 1997).

Famili Araceae tersebar di seluruh pulau di Indonesia contohnya pulau Kalimantan terdapat 297 spesies, pulau Sumatra terdapat 159 spesies, pulau Sulawesi terdapat 49 spesies, dan pulau Jawa terdapat 67 spesies. Hingga kini, di Indonesia belum memiliki data yang akurat, baik tentang jumlah, jenis maupun genus dari famili Araceae (Maretni *et al.*, 2017).

Pada awal tahun 2020 terdapat penemuan spesies baru dari Genus *Homalomena* di daerah Tapanuli Selatan yang diberi nama *Homalomena pexa*. Spesies baru ini memiliki ciri morofologi yang cukup unik dibandingkan dengan jenis *Homalomena* lainnya, yakni seluruh bagian daunnya ditutupi dengan trikoma yang rapat dan lebat, berbeda dengan *Homalomena* pada umumnya yang sebagian besar memiliki ciri morfologi permukaan daun mengkilap. Spesies dengan ciri trikoma lebat pada marga *Homalomena* sebelumnya dilaporkan hanya ada pada *Homalomena hasei* dimana di permukaan daunnya memiliki lapisan trikoma tetapi tidak rapat. Batang *Homalomena pexa* berwarna merah kecoklatan. Alat perkembangbiakan generatif dari *H. pexa* berbentuk tongkol dengan seludang menyerupai kapsul (Yeng *et al.*, 2020).

Keberadaan *H. pexa* sebagai spesies baru menambah keberagaman jenis dari Famili Araceae, hal ini merujuk pada Q.S As-Syu'ara ayat 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَىٰ الْآرِضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Yang artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”. Kandungan ayat tersebut memberi makna bahwa Allah Swt telah menjadikan bumi ini sebagai hamparan untuk menumbuhkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, salah satunya tumbuhan talas-talasan (*Araceae*) (Bohari dan Wahidah, 2015).

Informasi mengenai *H. pexa* yang telah terpublikasi meliputi ciri morfologi dan habitat, sedangkan lokasi detil ditemukannya *H. pexa* tidak dipublikasikan karena terkait kepentingan konservasi dari tumbuhan tersebut. Konservasi perlu dilakukan untuk menjaga tumbuhan tersebut, *H. pexa* tergolong dalam famili araceae yang mana famili tersebut telah masuk daftar tumbuhan yang terancam punah. Menurut Widiyanti dan Mukarlina (2017), kebakaran hutan dan konversi lahan sangat berdampak bagi kelangsungan hidup Araceae di alam liar. Begitu pula dengan spesies

baru yang belum dilakukan studi yang lebih mendalam, perlu dilakukan konservasi genetik yang bertujuan untuk menyelamatkan materi genetik tumbuhan tersebut, karena dikhawatirkan mati atau punahnya spesies tersebut yang belum banyak ditemukan di tempat lain, mengingat *H. pexa* bereproduksi secara generatif menggunakan rimpang dan bukan umbi, jadi sangat rentan sekali *H. pexa* mengalami kematian. Berbeda dengan tumbuhan famili Araceae lainnya yang memiliki sistem parakaran yang relatif dangkal dengan daya jangkau akar. Berdasarkan data identifikasi Araceae mencapai kedalaman 40—60 cm dari permukaan tanah (Muchtadi dan Sugiyono, 1992). Batang dibawah tanah membentuk umbi, umbi yang terbentuk memiliki keragaman bentuk yaitu berbentuk kerucut, mebulat, silindris, elips, halter, memanjang, datar, dan tandan (IPGRI, 1999; Yeng *et al.*, 2020).

Konservasi secara *in situ* maupun *ex situ* perlu dilakukan untuk mencegah adanya kepunahan. Salah satu upaya untuk mendukung konservasi *ex situ* adalah dengan penelitian molekuler. Penelitian molekuler dapat disebut upaya konservasi *ex situ* karena dilakukan di laboratorium. Penelitian molekuler berupa karakterisasi sekuen *DNA barcoding*. Sejauh ini belum ditemukan

informasi mengenai sekuen nukleotida dari tumbuhan tersebut. Hal inilah yang mendorong penelitian molekuler. Pendekatan molekuler dapat dilakukan dengan menggunakan sekuen DNA dengan bantuan analisis sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer* (ITS).

Sekuen ITS memiliki variasi sekuen yang tinggi karena daerah tersebut merupakan daerah *non-coding* yang memiliki laju mutasi lebih tinggi dari daerah *coding*. Pada *region* ITS sering terjadi perubahan materi genetik seperti halnya mutasi sehingga dapat berbeda variasi genetiknya antar spesies (James,1996). Penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan kontribusi secara molekuler untuk dijadikan sebuah rujukan, semisal di wilayah lain ditemukan tanaman yang sama tetapi belum ada yang mengetahui. Hasil penelitian ini berupa *DNA barcoding* dan nantinya akan di upload pada NCBI dan sebagai pendukung penyusunan Flora Malesiana pada famili Araceae.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan sebelumnya, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Bagaimana karakter sekuen *Internal Transcribed Spacer H. pexa*?
2. Bagaimana posisi *H. pexa* dalam pohon kekerabatan dibandingkan dengan genus *Homalomena* berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* di NCBI?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui karakter komponen sekuen DNA *Internal transcribes spacer H. pexa*.
2. Mengetahui posisi *H. pexa* dalam pohon kekerabatan berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* dibandingkan dengan data di NCBI.

D. Manfaat penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki beberapa manfaat dalam bidang keilmuan adalah :

1. Menjadi informasi dasar dan rujukan dalam upaya pemuliaan tanaman *H. pexa* berdasarkan karakter sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer*.
2. Memberikan kontribusi dalam perkembangan sistem klasifikasi tanaman *H. pexa* menggunakan

sekuen *Internal Transcribed Spacer* dibandingkan dengan data di NCBI.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

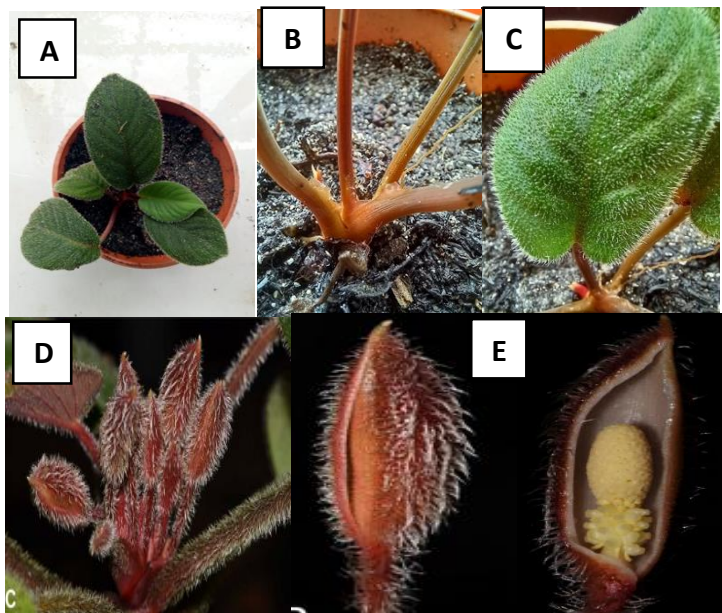
1. *Homalomena pexa*

a. Morfologi

Homalomena merupakan genus yang terdiri dari 110 spesies, salah satu spesies tersebut adalah *Homalomena pexa*. Pada awal tahun 2020 lalu, beberapa peneliti berhasil mengidentifikasi tumbuhan tersebut dengan mengamati ciri morfologi. Morfologi *H. pexa* berbeda dengan spesies dari famili Araceae pada umumnya. Dalam tingkatan genus, *H. pexa* memiliki ciri morfologi yang sangat berbeda. Ciri morfologi *H. pexa* yaitu daun berbentuk bulat telur berwarna hijau dengan panjang 15—25 cm. Panjang tangkai daun cukup berkisar 15—30 cm, permukaan daunnya ditutupi oleh trikoma lebat dan rapat memenuhi seluruh permukaan baik pada bagian abaksial dan adaksialnya. Batang berwarna coklat kemerahan dengan permukaan batang bertekstur salur halus, akar serabut dapat dilihat pada gambar 1.1.

Menurut Yeng et al. (2020) *H. pexa* memiliki sistem perbungaan majemuk yang terdiri dari *spathe* (seludang) yang menyelubungi *spadix* (tongkol) yang terdiri dari

bunga jantan dan betina. Seludang berwarna cokelat kemerahan dan dilapisi trikoma berwarna merah keputihan dapat dilihat pada Gambar 2.1. *Homalomena pexa* tidak banyak dijumpai sehingga disebut tumbuhan lokal.



Gambar 2.1 Profil Tumbuhan *H. pexa*: a. Perawakan, b. Batang dan Pelepah, c. Daun, d. Sistem perbungaan e. *Spathe* dan *Spadix* (Sumber a, b, c : dokumentasi koleksi pribadi, 2020) (Sumber d dan e : Yeng *et al.*, 2020)

b. Klasifikasi *Homalomena pexa*

Klasifikasi *H. pexa* berdasarkan kedudukannya dalam taksonomi tumbuhan sebagai berikut (Yeng *et al.*, 2020):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Ordo	: Arales
Family	: Araceae
Genus	: <i>Homalomena</i>
Spesies	: <i>Homalomena pexa</i>

c. Habitat

Pada umumnya famili Araceae hidup daerah tropis sehingga tumbuhnya menyebar di negara-negara yang dilalui garis khatulistiwa. Habitat *Homalomena* pada umumnya terdapat di dataran rendah hingga dataran sedang, sebagian besar di lantai hutan, area tepi sungai sungai, dan area curam dengan *drainase* yang cukup baik (Hartanti *et al.*, 2020).

Habitat dari *H. pexa*, tumbuhan ini tergolong tumbuhan litofit yaitu tumbuhan yang habitatnya di bebatuan yang lembab atau kadang-kadang terestrial di tepi sungai maupun di hutan dengan suhu rendah dan teduh

(Wilyasari, 2020; Yeng *et al.*, 2020). Familli Araceae pada umumnya Secara struktural dan fisiologis tanaman ini tidak bisa beradaptasi pada habitat yang kering dan dingin. Araceae sangat melimpah dan beragam pada daerah tropis yang basah (Asih & Kurniawan, 2019).

d. Manfaat

Araceae pada umumnya mempunyai nilai guna tinggi baik dari segi ekonomi dan ilmiah. Pemanfaatan tumbuhan *Araceae* oleh masyarakat antara lain sebagai tanaman hias, sumber pangan dan obat-obatan (Asih *et al.*, 2014; Erlinawati & Tihurua, 2013). Masyarakat Bali memanfaatkan tumbuhan *Araceae* lebih spesifik, yaitu sebagai kelengkapan upacara adat agama Hindu (Warseno *et al.*, 2013).

Manfaat tumbuhan genus *Homalomena* pada umumnya adalah dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias, sebagai obat, sebagai alat upacara adat (Hutasuhut, 2020). Keberadaan *H. pexa* sebagai salah satu spesies dari famili araceae dapat berfungsi sebagai penahan air hujan dan aliran permukaan sehingga meminimalkan bahaya erosi. Daun-daun tumbuhan ini dapat mengurangi intensitas cahaya matahari menuju tanah sehingga tanah menjadi lembab dan teduh. Selain itu, tumbuhan ini juga sering

dijadikan sebagai indikator kesuburan tanah dan penghasil serasah dalam meningkatkan kesuburan tanah (Kusuma, 2019). Sebagai spesies baru, sejauh ini belum ada penelitian yang mengkaji manfaat *H. pexa* lebih jauh.

2. DNA Barcode

DNA adalah penyimpan utama informasi genetik dimana informasi genetik ini disalin dan dipindahkan ke molekul RNA, sekuen nukleotida yang mengandung kode untuk asam amino yang khas. Pada tumbuhan, DNA biasanya terdapat dalam inti sel dan beberapa organ lain seperti mitokondria dan kloroplas. (Nicholas, 1993; Rahayu & Jannah, 2019).

DNA barcode adalah teknik menggunakan sekuen DNA yang berukuran pendek, yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi suatu spesies. Identifikasi organisme awalnya hanya berdasarkan karakter morfologi, saat ini telah berkembang penelitian bidang molekular, dimana pengelompokan dilakukan berdasarkan kemiripan gen yang dimiliki organisme. Tetapi hingga saat ini *DNA barcode* yang telah ada tidak bisa dipakai bagi tumbuhan secara universal, karena adanya keragaman yang sangat tinggi pada tumbuhan. *DNA barcode* merupakan salah satu

pendekatan yang dapat digunakan untuk menganalisis variasi genetik. *DNA barcode* dapat memberikan kontribusi kuat untuk penelitian keanekaragaman hayati dan taksonomi (Abdullah *et al.*, 2019;).

DNA barcode memiliki variabilitas yang cukup tinggi untuk membedakan antar spesies. *DNA barcode* dapat diperoleh dari inti (nDNA), kloroplas (cpDNA) dan mitokondria (mtDNA). Masing-masing sekuen *DNA barcode* memiliki karakteristik yang spesifik. *DNA barcode* inti (nDNA) antara lain ITS, 18S, 26S, sedangkan *DNA barcode* kloroplas antara lain *rbcL*, *ndhF*, *atpB*, *matK*, *rpl16* (Rahayu & Jannah, 2019). Mengaplikasikan pemanfaatan *DNA barcoding* sangat penting dilakukan terutama pada spesies baru yang masih rentan terhadap kepunahan, materi genetik bisa dijadikan alat untuk konservasi yang akan menjadi data rujukan mengenai spesies baru.

3. Sekuen *Internal Transcribed Spacer*

Pada awal berkembangnya ilmu mengenai analisis molekuler, sekuen DNA yang sering digunakan dalam penelusuran hubungan kekerabatan, penelusuran evolusi suatu spesies, dan sistematika molekuler adalah DNA mitokondria. Hal ini dikarenakan DNA mitokondria memiliki laju mutasi sepuluh kali lipat lebih tinggi

daripada DNA inti, tidak memiliki intron, jarang terjadi rekombinasi, DNA mitokondria bersifat monofiletik, diturunkan secara maternal dalam bentuk haploid berdasarkan garis keturunan maternal, DNA mitokondria memiliki jumlah salinan DNA yang sangat banyak dalam organelnya, dan pada sel yang sama terdapat 100—10.000 salinan genom mitokondria. Oleh sebab itu, untuk mengisolasi DNA mitokondria lebih mudah daripada DNA inti. Tapi seiring berjalannya waktu dan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan, DNA yang bersumber di inti menjadi lebih populer untuk digunakan. Banyak penelitian-penelitian yang menggunakan *region* inti (Rahayu & Jannah, 2019).

Region barcode yang sering digunakan pada tumbuhan dan berprospek pada *barcoding* salah satunya adalah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *Region* ITS merupakan suatu urutan RNA dari proses transkripsi utama yang berada di daerah inti. Organisme eukaryotik mempunyai dua daerah ITS yaitu ITS-1 terletak di antara 18S gen dan 5.8S gen, dan ITS-2 terletak di antara 5.8S dan 28S gen. Ketiga gen inti tersebut mempunyai tingkat konservasi yang sangat tinggi (Yeng *et al.*, 2013). ITS pada daerah 18s-28s r-DNA *nuclear* menjadi fokus utama untuk digunakan pada rekontruksi filogenetik. Karena *region* ITS

memiliki tingkat variasi yang tinggi dibandingkan dengan daerah lainnya (Takono&Okada, 2002). Dibandingkan dengan region lain, ITS merupakan daerah region yang berbeda dan memiliki informasi untuk proses identifikasi kekerabatan (Sun *et al.*, 1994).

Region *Internal Transcribed Spacer* sering digunakan dalam menganalisis filogenetika molekuler karena ITS memiliki karakteristik unggul dengan memiliki panjang kurang lebih 700bp dan memiliki Salinan yang banyak di genom inti. Selain itu, ITS juga memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi dalam amplifikasi PCR, sekuensing dua arah (*forward* dan *reverse*) dan tingkat variasi yang tinggi bahkan di antara spesies yang berkaitan erat. Region ITS dinilai sebagai *DNA barcoding* yang menyajikan variabel atau karakter lebih tinggi. Sekuen ITS menunjukkan diskriminasi spesies yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk penelitian spesies baru (Letchuman, 2018. Hariri *et al.*, 2021).

4. Konservasi Genetik

Kekayaan Indonesia akan keanekaragaman hayati dengan komponen-komponennya merupakan bekal masa depan yang dapat diambil manfaatnya di berbagai sektor. Dengan potensi ini, Indonesia wajib melakukan upaya konservasi beserta legislasi yang efektif untuk mengatasi laju kerusakan dan kehilangan keanekaragaman hayati yang telah mencapai tingkat yang sangat mengkhawatirkan. Hal ini perlu diterapkan untuk keanekaragaman hayati tipe spesies baru

Konservasi genetik merupakan upaya pengelolaan dan konservasi spesies dengan menggunakan pendekatan molekuler dalam memahami berbagai aspek biologi spesies. Konservasi genetik berupa kegiatan menyimpan gen sebagai langkah mengamankan keberlangsungan atau keberadaan suatu makhluk hidup. Dalam konservasi genetik, terbagi menjadi dua macam, *in-situ* dan *ex-situ*. Konservasi genetik di Kebun Raya Bogor dilakukan secara *ex-situ*, yang artinya terkondisikan pada habitat buatan. Konservasi tersebut disebut juga dengan istilah *gen bank* atau bank gen (Fahmi, 2015; Rimbawanto, 2006).

Bank Gen merupakan tempat penyimpanan sekaligus publikasi yang berkaitan dengan hasil suatu

penelitian, berupa sekuens nukleotida dari makhluk hidup. Kegunaan bank gen ini sangatlah sentral, karena berperan penting dalam penyediaan sekuens nukleotida makhluk hidup yang keberadaannya di alam cukup mengkhawatirkan maupun bersifat *native*. Selain itu bisa digunakan sebagai data pembandingan sekuens antar makhluk hidup sehingga potensi penelitian melalui *data mining* di bank DNA semakin banyak (Rimbawanto, 2006).

5. Kajian Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Penemuan spesies baru *H. pexa* merupakan bukti keanekaragaman tumbuhan yang cukup banyak. Hal ini tidak terlepas dari bentuk kekuasaan Allah SWT yang telah menciptakan seluruh keanekaragaman yang ada. Allah SWT berfirman dalam surah Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً ۖ فَآخَرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُّخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا ۖ وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُسْتَنَبَاتٍ وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak, dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang me njulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (Kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”

Menurut tafsir Ibnu Katsir ayat tersebut menjelaskan bahwa dengan kadar tertentu yang menurunkan berkah dan rizki bagi makhluk, serta rahmat Allah untuk seluruh makhluk-Nya. Kemudian diciptakan tanaman-tanaman, pepohonan yang hijau, dan menciptakan di dalamnya biji-bijan serta buah-buahan. Kemudian tersusun antara satu dengan yang lainnya, seperti bulir (seperti padi). Allah menciptakan itu semua yang mudah dipetik oleh pemetiknya. Selain itu, Allah menciptakan anggur dan kurma sebagai anugerah kepada hamba-hamba-Nya. Ayat ini juga menjelaskan terdapat kesamaan pada daun dan bentuk, tetapi juga memiliki perbedaan pada buah, bentuk, rasa, maupun sifatnya. Hal ini menjadi bukti

kesempurnaan ciptaan Allah SWT, dan merupakan bentuk hikmah serta rahmat-Nya bagi mereka yang membenarkan adanya Allah SWT dan mengikuti para Rasul-Nya (ibnukatsironline.com, 2015).

B. Kajian Hasil Penelitian yang Relevan

Penelitian terkait *H. pexa* pernah dilakukan oleh Yeng, *et al* pada tahun 2020 dari *Journal of Plant Taxonomy and Geography* dengan judul *Studies on Homalomeneae (Araceae) of Sumatera VI: two remarkable new species of Homalomena (Chamaecladon Clade)*. Pada penelitian ini menjelaskan bahwa telah ditemukannya dua spesies baru dari genus *Homalomena* pada awal tahun 2020 yaitu *H. pexa* dan *Homalomena anthurioides*. Pada penelitian ini hanya mengulas mengenai ciri morfologi dari *H. pexa* yang memiliki ciri unik dan berbeda dengan ciri morfologi spesies pada genus *Homalomena* pada umumnya. Ciri morfologi *H. pexa* yaitu permukaan daunnya ditutupi oleh trikoma lebat dan rapat memenuhi seluruh permukaan baik pada bagian abaksial dan adaksialnya. Batang berwarna coklat kemerahan. Dalam jurnal dijelaskan habitat *H. pexa* yaitu di bebatuan yang lembab atau kadang-kadang terestrial di tepi sungai maupun di hutan dengan suhu rendah dan teduh.

Penelitian mengenai *Region Internal Transcribed Spacer* dalam studi filogeni *Homalomena* pernah dilakukan oleh (Yeng et al., 2013) dengan judul *Phylogeny of Asian Homalomena (Araceae) based on the ITS Region Combined with Morphological and Chemical Data* dengan artikel terpublikasi di *Journal of Systematic Botany* (2013), 38(3) halaman 589-599. Pada artikel tersebut memiliki tujuan utama yaitu untuk mengetahui filogenetik genus *Homalomena* di Asia dengan *DNA Barcoding region ITS* dan didukung dengan data morfologi dan kandungan kimianya. Hasil penelitian diperoleh bahwa ITS mampu menghasilkan pita DNA tunggal dengan baik dan mampu mengelompokkan spesies dalam pohon filogenetik.

Penelitian lain juga dipublikasikan oleh Vasconcelos *et al.* (2018) di *Journal Phylogenetics and Evolution* yang berjudul *New insights on the phylogenetic relationships among the traditional Philodendron subgenera and the other groups of the Homalomena clade (Araceae)*. Penelitian ini memiliki tujuan utama yaitu untuk mengkonfirmasi filogenetik genus *Homalomena* dan *Philodendron*, jika dilihat secara morfologi beberapa spesies dari tumbuhan tersebut belum bisa dibedakan untuk sistem kekerabatannya. Penelitian dilakukan dengan *DNA Barcoding region ITS* dan tumbuhan yang

dianalisis antara lain *Philodendron* dan tiga sub divisi utamanya, juga *Homalomena*. Hasil penelitian diperoleh bahwa tiga subdivisi dari *Philodendron* terkonfirmasi membentuk *clade* yang sama dan memisah dengan beberapa spesies dari *Homalomena*.

Berdasarkan literatur beberapa penelitian 10 tahun terakhir belum ditemukan penelitian mengenai Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer Homalomena pexa*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai Karakterisasi Sekuen DNA *Internal Transcribed Spacer H. pexa*.

C. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang terdapat dalam penelitian ini, hipotesis yang muncul pada penelitian ini yaitu:

1. H_0 : Tidak terdapat karakteristik sekuen DNA pada gen *ITS* dari *H. pexa*.
 H_1 : Terdapat karakteristik sekuen DNA pada gen *ITS* dari *H. pexa*.
2. H_0 : Tidak diketahui posisi *H. pexa* dalam pohon kekerabatan dibandingkan dengan genus *Homalomena* berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* di NCBI.

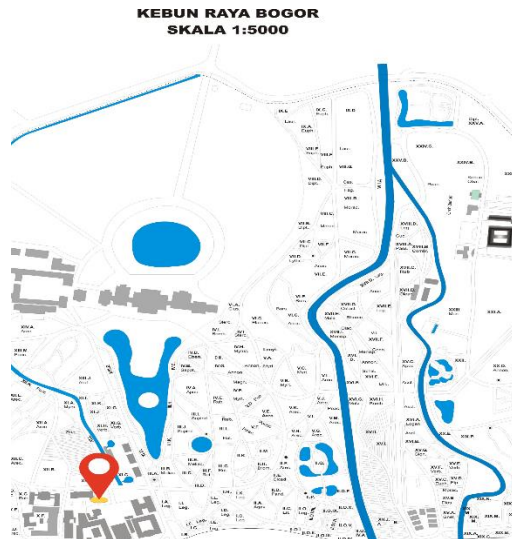
H₁: Diketahui posisi *H. pexa* dalam pohon kekerabatan dibandingkan dengan genus *Homalomena* berdasarkan sekuen *Internal Transcribed Spacer* di NCBI.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Treub, Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, Badan Riset dan Inovasi Nasional di Bogor Jawa Barat. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Desember 2021. Peta lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Peta Lokasi Laboratorium Treub (Subbidang Registrasi Kebun Raya Bogor, 2021)

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk menunjang penelitian antara lain gunting, plastik klip, spidol marker, mortar, pistil, pinset, spatula, mikropipet (Eppendorf) 2,5 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, dan 1000 μ l, tabung mikro ukuran 2 ml dan 1,5 ml, aluminium foil, karet gelang, heatblock (VWR), sentrifuge (Spectrafuge 24D), vortex (VWR), spindown (Benchmark), microwave (Sharp), thermocycler (Takara), neraca analitik (Precisa XT220A), Erlenmeyer (Iwaki) 100 ml, set elektroforesis (Nyxtechnik), Gel documentation (EZ Imager Bio-Rad), Komputer Dell.

2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk menunjang penelitian antara lain daun *H. pexa*, pasir silica non-steril, kit ekstraksi DNA (TianGen) cat.no. DP305, MyTaq (Bioline), ddH₂O, Tris-Acetate-Edta (Thermoscientific 50X HB49), *gene ruler* 1 kb (Thermoscientific SM0311), Gelred (Biotium 41003), primer ITS, dan agarosa (Thermoscientific R0491).

C. Metode

1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara langsung di rumah kaca Laboratorium Treub, dimana *H. pexa* diaklimatisasi. Sampel yang diambil cukup daunnya saja. Setelah diambil sampel daun, disimpan di dalam plastik klip preparat dan ditambah *silica gel* untuk menyerap air sehingga daun mengering (Zhao *et al.*, 2020).

2. Ekstraksi DNA

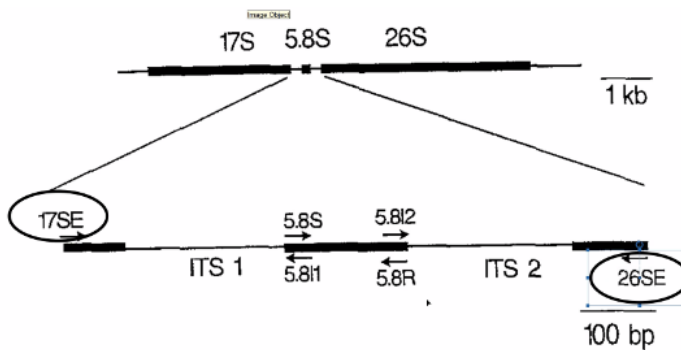
Proses ekstraksi DNA menggunakan Kit Tiangen dan prosedurnya sesuai dengan prosedur yang tertera pada katalog Kit (Tiangen Biotech Co., Ltd.). Proses ekstraksi DNA yang pertama adalah penggerusan sampel daun dengan mortar dan pistil, ditambah pasir *silica non-steril* agar mudah saat proses penggerusan. Hasil penggerusan berupa serbuk disimpan dalam tube berukuran 2mL dengan volume yang dimasukkan 0,1 mL. Sisa dari sampel dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 2 mL. Sampel 0,1 mL ditambahkan Reagen GP1 sebanyak 700 µl kemudian divortex. Setelah itu diinkubasi di *heatblock* dengan suhu 65°C selama 20 menit dan setiap lima menit di bolak-balikkan. Setelah

diinkubasi ditambahkan kloroform sebanyak 700 μ l kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Hasil dari sentrifugasi berupa pelet dan supernatan, diambil sebanyak $\pm$ 450 μ l supernatan dan ditambahkan 700 μ l buffer GP2 kemudian dihomogenkan. Sampel diambil sebanyak 600-700 μ l dan pindahkan ke spin column CB3. Selanjutnya disentrifugasi kecepatan 12.000 rpm selama setengah menit. Dibuang supernatan bagian bawah filter, dan dimasukkan kembali sisa sampel ke spin column CB3 yang sama. Ditambahkan 500 μ l buffer GD sebanyak 500 μ l, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama setengah menit. Supernatan di bawah filter spin column dibuang, kemudian ditambahkan reagen PW sebanyak 700 μ l dan disentrifugasi selama setengah menit pada kecepatan 12.000 rpm. Selanjutnya ditambahkan 500 μ l reagen PW II dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2,5 menit. Wadah penampung bawah filter dibuang dan gantikan dengan tabung mikro ukuran 1,5 ml sebagai penampung. Masukkan buffer TE sebanyak 100 μ l kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang, selanjutnya disentrifugasi menggunakan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit. Filter pada spin

column dibuang dan sampel DNA sudah siap untuk diamplifikasi menggunakan PCR.

3. Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi DNA dicapai dengan menggunakan primer dengan target region 17 SE-26 SE atau meng-cover ITS1 dan ITS2 seperti pada Gambar 3.2. Sekuen primer yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1 (Sun *et al.*, 1994).



Gambar 3.2 Daerah *region* target sekuensing *Internal Transcribed Spacer*
(Sumber : Sun *et al.*, 1994)

Tabel 3.1. Kode Primer

No	Kode	Sekuen Primer (5'-3')
1.	17 SE	ACG AAT TCA TGG TCC GGT GGA GTG TTC G
2.	26 SE	TAG AAT TCC CCG GTT CGC TCG CCG TTA C

Selain primer, tahap Amplifikasi DNA, menggunakan beberapa komponen PCR mix, antara lain DNA 15 µl, PCR mix (Mytaq) sebanyak 25 µl, DDH₂O 7 µl, primer *forward* dan *reverse* masing-masing konsentrasi 1% (2 µl+198 µl) sebanyak 3 µl, dengan keseluruhan volume PCR mix adalah 50 µl. Proses PCR yang digunakan terdiri dari denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit, kemudian dilanjutkan amplifikasi sebanyak 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 58°C selama 45 detik, dan *extention* pada 72°C selama 45 detik. Tahap akhir merupakan *final extention* pada suhu 72°C selama 5 menit.

4. Elektroforesis

Elektroforesis menggunakan gel konsentrasi 1% dari 0,8 gr agarose dicampur 80ml buffer TAE 1x kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dipanaskan di *microwave* selama 2 menit dengan 2 kali 1

menit, atau hingga mendidih. Diamkan setengah menit kemudian tuangkan gelred sebagai pewarna sebanyak 1 μ l kemudian dihomogenkan. Gel agarose dituang ke cetakan gel elektroforesis yang sudah terpasang dengan 2 sisi cetakan sumur, didiamkan pada suhu ruang hingga memadat. Pada sisi paling ujung sumuran dimasukkan Ladder sebanyak 3 μ l. Sampel DNA diambil 5 μ l untuk dimasukkan ke dalam sumuran. Elektroforesis mulai running dengan kecepatan 100 volt selama 30 menit. Hasil dari elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan geldoc. Setelah hasil dari visualisasi terdapat amplikon yang baik, maka dapat dilanjutkan untuk proses sekuensing yang dilakukan di 1st Base Singapura.

5. Analisis Data

Data hasil dari penelitian ini kemudiaan dianalisis dengan menggunakan beberapa aplikasi. Urutan *contig* dianalisis menggunakan program MEGA X dengan Kimura-2 parameter model dan *dicontig* antara sekuen *forward* dan *reverse* sebagai sekuen sampel, identifikasi *alignment* menggunakan *Codoncode Aligner*. Sedangkan hasil dari *contig* kemudian diidentifikasi molekuler menggunakan BLAST melalui *National Center for*

Biotechnology Information (NCBI), akan muncul 100 spesies yang memiliki *percent identity* atau kemiripan dengan sampel dan diambil 10 spesies dengan *percent identity* diatas 85% untuk di-*alignment* kembali. Hasil *alignment* kemudian dikonstruksi pohon menggunakan *Neighbor Joining* (NJ) dan Kimura-2parameter dengan 1000 ulangan *bootstrap*.

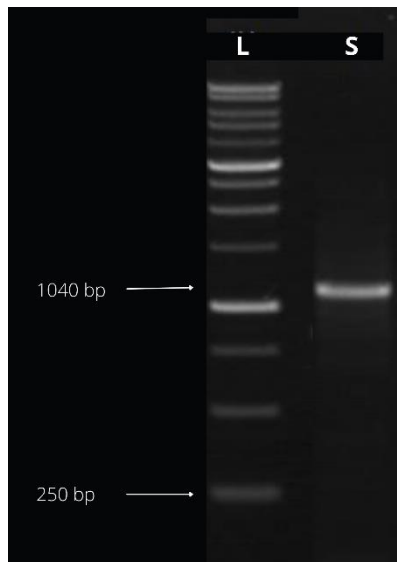
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Visualisasi Produk PCR *Homalomena pexa*

Hasil amplifikasi sekuen ITS *H. pexa* divisualisasikan pada gel agarosa 1% dengan DNA ladder 1 kb memperlihatkan bahwa fragmen DNA target berukuran 1040 bp pasang basa (Gambar 4.1).

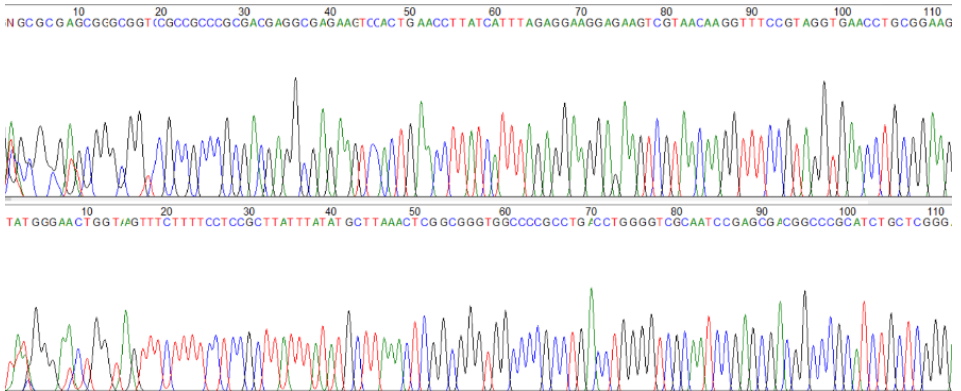


Gambar 4.1 Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR dari sampel *Homalomena pexa*; L: Ladder 1 kb, S: Sampel (*Homalomena pexa*)

2. Kromatogram Sekuen *Homalomena pexa*

Hasil dari proses sekuensing berupa data dalam format AB1. Per-sekuensing dihasilkan dua data sekuen yaitu dari *primer forward* dan *reverse*. Data mentah sekuen berupa kromatogram atau grafik fragmen (warna) yang terdiri dari (bukit dan lembah). Warna garis pada kromatogram disesuaikan dengan jenis basa nukleotida, warna merah (timin/t), warna biru (sitosin/C), warna hijau (adenin/A), dan warna hitam (guanin/g). Fungsi kromatogram yaitu untuk mengetahui kualitas sekuen termasuk letak mutasi gen. Dalam suatu sekuen terkadang terdapat N dan terdapat *gap* (basa nukleotida kosong/-), proses editing dapat dilakukan dengan melihat grafik fragmen tersebut.

Dalam proses penyejajaran sekuen diperlukan data berupa kromatogram untuk menganalisis dan menyunting sekuen apabila ditemukan *gap* (sekuen nukleotida yang kosong) dan terdapat N (gangguan penentuan basa nukleotida, bukan A, C, G, T) pada sekuen (Lampiran 2). Hasil kromatogram *H. pexa* tidak terlalu baik karena terdapat banyak *peak* yang tumpang tindih dan garis kromatogram tidak membentuk *peak* dengan sempurna. Data kromatogram dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Kromatogram parsial hasil sekuensing sampel *Homalomena pexa*. Atas *forward*, bawah *reverse*.

3. Hasil *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

Data sekuen *forward* dan *reverse* diolah menggunakan aplikasi *Codoncode Aligner* untuk mendapatkan sekuen *contig*. Sekuen *contig* akan digunakan dalam *blasting* atau penyejajaran sekuen pada NCBI sebagai data untuk identifikasi secara filogenetik. *Blasting* dilakukan menggunakan laman NCBI (BLASTn). Hasil BLAST akan menunjukkan kesamaan dari sekuen yang dikaji dengan spesies-spesies yang telah ada di *database*.

Sebanyak 100 spesies yang terdiri dari genus *Homalomena* (89%) dan beberapa anggota genus lain seperti *Furtadoa* (3%), *Philodendron* (6%), dan *Adelonema* (2%) (Tabel 4.3). Dua puluh spesies dengan *percent identity* paling tinggi dipilih untuk dilakukan penyejajaran dan kontruksi

pohon filogenetik. *Percent identity* paling tinggi dipilih karena semakin tinggi *percent identity* maka nilai homologi (kemiripan) semakin besar.

Tabel 4.3 Hasil BLAST Sekuen *H. pexa*

Spesimen	No Akses	% ID	Nilai E	Nilai Kueri
<i>Homalomena humilis</i>	JQ413316.1	97.73 %	0.0	83%
<i>Homalomena tonkinensis</i>	KM580741.1	94.82%	0.0	91%
<i>Homalomena rubescens</i>	KM580744.1	94.76%	0.0	91%
<i>Homalomena curvata</i>	JX076777.1	95.64%	0.0	89%
<i>Homalomena expedita</i>	JX076778.1	95.84%	0.0	86%
<i>Homalomena atrox</i>	JQ955571.1	97.97%	0.0	79%
<i>Homalomena philippinensis</i>	DQ866811.1	96.37%	0.0	83%
<i>Homalomena borneensis</i>	JQ413327.1	94.52%	0.0	83%
<i>Homalomena asmae</i>	JQ413317.1	92.96%	0.0	83%
<i>Homalomena insignis</i>	JX076783.1	92.54%	0.0	87%

Tabel. 4.3 Lanjutan Hasil BLAST

Spesimen	No Akses	% ID	Nilai E	Nilai Kueri
<i>Homalomena punctulata</i>	JX076785.1	92.94%	0.0	85%
<i>Homalomena havilandii</i>	JX076781.1	92.58%	0.0	86%
<i>Homalomena vivens</i>	JX076796.1	91.51%	0.0	87%
<i>Homalomena clandestina</i>	JX076775.1	90.91%	0.0	88%
<i>Homalomena sengkenyang</i>	JX076789.1	90.75%	0.0	88%
<i>Homalomena josefii</i>	JX076784.1	90.73%	0.0	88%
<i>Homalomena vagans</i>	JX076809.1	91.33%	0.0	86%
<i>Homalomena hanneae</i>	JX076779.1	90.44%	0.0	87%
<i>Homalomena rostrata</i>	JX076786.1	89.94%	0.0	86%
<i>Homalomena havilandii</i>	JX076781.1	92.58%	0.0	86%
<i>Homalomena punctulata</i>	JX076785.1	92.94%	0.0	85%
<i>Furtadoa mixta</i>	KM580747.1	96.98%	0.0	91%

4. Analisis *Multiple Aligment* (MAS) *Sequence Homalomena pexa* dengan hasil BLAST dengan nilai *percent identity* tertinggi

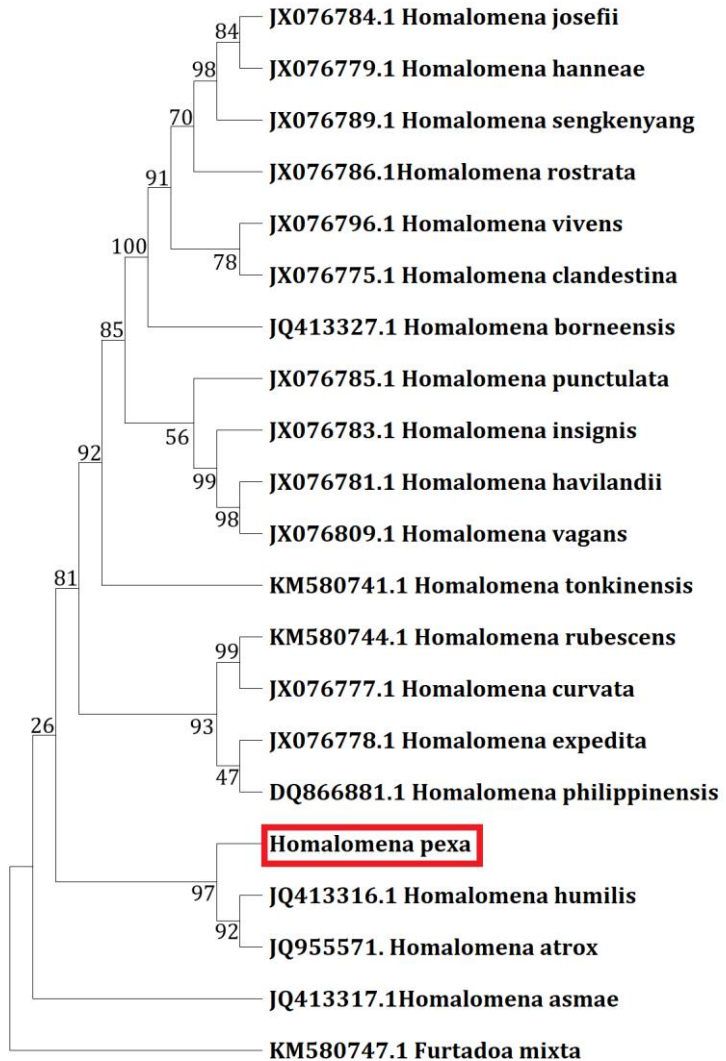
Sekuen hasil BLAST disimpan dengan format FASTA kemudian dianalisis menggunakan MEGA X. Hasil penyejajaran sekuen diambil dua sekuen dengan *percent identity* tertinggi, berdasarkan hasil BLAST, yakni *H. atrox* (97.97%), *H. humilis* (97.73%) dan *contig* dari sekuen *forward-reverse H. pexa*. Hasil penyejajaran *Multiple Aligment Sequence* dapat dilihat pada Lampiran 2.

Hasil dari penyejajaran sekuen menggunakan *Bioedit* menampilkan data bahwa ketiga sampel memiliki kemiripan sekuen sebesar 96%. Sebanyak 4% sekuen tidak *conserve* dan terdapat garis putus-putus (*gap*). Persentase tersebut sesuai dengan nilai *percent identity* dari *H. humilis* dan *H. atrox* sehingga dapat dilihat hasil analisis *Multiple Aligment Sequence* pada konstruksi pohon filogenetik.

5. Hasil Kontruksi Pohon Filogenetik menggunakan *Neighbor Joining*

Hasil konstruksi pohon yang dilakukan dengan menggunakan metode *Neighbor Joining* dan Kimura-2 *parameter* (Kimura, 1980). Konstruksi pohon dilakukan dengan nilai ulangan *bootstrap* 1000 kali (Felsenstein,

1985). Hasil konstruksi menunjukan bahwa *H. pexa* membentuk *clade* dengan *H. atrox* dan *H. humilis* (Gambar 4.4). Penggunaan metode *Neighbor Joining* disesuaikan dengan Saitou & Mei (1987) yang menyatakan bahwa metode ini mampu menghasilkan panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan cara menstimulasi tingkat variasi dari perubahan evolusi. Metode *Neighbor Joining* adalah yang paling cocok untuk memprediksi pohon dengan benar. Penggunaan Kimura-2 *parameter* agar mampu menghitung jarak genetik *H. pexa* dan lainnya.



Gambar 4.4 Pohon Filogenetik dengan metode *Neighbor Joining* dan *Kimura-2parameter* dengan *bootstrap* 1000 kali.

6. Jarak Genetik *H. pexa* dengan 20 Sekuen hasil BLAST

Jarak genetik merupakan metode untuk menentukan perhitungan kemiripan genetik antara *H. pexa* dengan spesies lain pada satu genus sama (*Homalomena*). Penentuan jarak genetik dilakukan setelah konstruksi pohon filogenetik menggunakan aplikasi MEGA X. Data jarak genetik dapat diunduh dengan format *excel* dan disajikan pada Lampiran 4.

Keterangan Lampiran 4 menunjukkan data jarak genetik dari 22 sekuen yang digunakan dalam penyejajaran sekuen. *H. pexa* memiliki jarak genetik terjauh dengan *H. sengkenyeng* yaitu sebesar 0,084. Sedangkan hasil jarak genetik terdekat dengan *H. atrox* sebesar 0,13 dan *H. humilis* 0,18. Semakin kecil nilai jarak genetik, maka semakin dekan spesies tersebut.

7. Komposisi Nukleotida Pada sekuen *Homalomena*

Produk hasil dari sekuensing dianalisis menggunakan aplikasi, penyejajaran sekuen dilakukan menggunakan MEGA X, selanjutnya *dicontig* menggunakan aplikasi *Codoncode aligner*. Sekuen dikarakterisasi untuk melihat komposisi dari nukleotida tersebut. Nukleotida terdiri dari beberapa basa nitrogen antara lain adenin (A), guanin (G), timin/urasil (T/U), sitosin (C). Komposisi dari sekuen nukleotida *H. pexa* terdiri dari basa nukleotida dengan persentase yang berbeda-beda. Komposisi sekuen *Homalomena* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi sekuen nukleotida *Homalomena*

	T(U)	C	A	G	Total
<i>H.rubescens</i>	14,3634	35,2557	15,6692	34,7116	919
<i>H.humilis</i>	13,4243	36,0637	15,3583	35,1535	879
<i>H.tonkinensis</i>	14,1304	34,7826	16,0869	35	920
<i>H.curvata</i>	14,4421	35,2297	15,3172	35,0109	914
<i>H.expedita</i>	14,3964	35,5481	15,1716	34,8837	903
<i>H. philippinensis</i>	14,0411	35,7305	14,9543	35,2739	876
<i>H. atrox</i>	13,1736	36,2874	14,9711	35,5688	835
<i>H.borneensis</i>	14,8788	35,2941	14,8788	34,9481	867

Tabel 4.2 Lanjutan komposisi sekuen nukleotida Homalomena

	T(U)	C	A	G
<i>H.asmae</i>	13,5933	36,0521	15,1311	35,2245
<i>H.punctulata</i>	13,5346	35,1231	15,3243	36,0178
<i>H.insignis</i>	15,8591	33,2599	15,6387	35,2422
<i>H. havilandii</i>	15,1214	34,3267	15,4525	35,0993
<i>H.vivens</i>	14,9237	34,7494	15,4684	34,8583
<i>H.sengkenyang</i>	15,3518	34,8614	15,2452	34,5415
<i>H.clandestina</i>	15,4427	34,3412	15,5507	34,6652
<i>H.vagans</i>	15,1548	34,1814	15,7079	34,9557
<i>H.josefii</i>	15,2197	35,0482	15,1125	34,6195
<i>H.hanneae</i>	15,0963	35,1177	15,0963	34,6895
<i>H.rostrata</i>	14,3947	35,7688	14,8309	35,0054
<i>H.pexa</i>	13,5519	35,4098	16,5027	34,5355
<i>H.asmae</i>	13,5933	36,0521	15,1311	35,2245
<i>H.punctulata</i>	13,5346	35,1231	15,3243	36,0178

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Visualisasi Produk PCR *H. pexa*

Hasil visualisasi memberikan informasi bahwa sekuen DNA telah teramplifikasi dengan baik. Indikator DNA teramplifikasi dengan baik dapat dilihat dari hasil amplikon yang terbentuk. Tebal atau tipisnya hasil amplikon

menandakan tingkat spesifitas amplifikasi target DNA (Prakoso *et al.*, 2016). Terlihat pada Gambar 4.1 bahwa amplikon yang terbentuk cukup tebal menandakan bahwa DNA target yang teramplifikasi dengan kualitas dan kuantitas yang cukup untuk disekuensing.

Hasil sekuensing produk PCR DNA *H. pexa* menggunakan primer ITS memiliki panjang fragmen 1040 bp (Lampiran 1). Berdasarkan hasil amplifikasi PCR sekuen *H. pexa* menunjukkan bahwa fragmen target teramplifikasi dengan baik yaitu spesifik satu pita dengan ukuran yang cukup besar. Amplikon yang terbentuk terdapat pada posisi 1040 bp untuk primer ITS (Gambar 4.1). Hal ini relevan dengan penelitian White *et al.* (1990) yang menyebutkan bahwa umumnya sekuen ITS (ITS 1 dan ITS 2) menghasilkan pita DNA dengan ukuran 900—1500 bp. Khisor dan Devi (2009) juga menyebutkan bahwa hasil amplikon menggunakan primer ITS spesifik dan sesuai pada ukuran kurang lebih 1000 bp mewakili seluruh wilayah ITS yang terdiri dari ITS1, 5.8S rDNA dan ITS2.

2. Kromatogram Sekuen *Homalomena pexa*

Data kromatogram sekuen *forward* dan *reverse* dari *H. pexa* memiliki karakteristik kualitas yang berbeda. Pada sekuen *forward* memiliki panjang 1038 bp sedangkan

panjang sekuen *reverse* yaitu 1040 bp. Hasil grafik berupa puncak dan lengkungan yang dapat dijadikan indikator baik atau kurang baiknya, suatu sekuen. Pada sekuen *H. pexa* (*forward*) kualitas sekuen jika diprosentasikan sebesar 95%, sedangkan untuk sekuen *reverse* sebesar 85 %. Hal tersebut dapat dilihat pada data kromatogram Gambar 4.2. Hasil kromatogram dengan terdapat cukup banyak *noise* bisa disebabkan adanya *multiple template* sekuen, sehingga mengganggu penentuan posisi basa DNA. Hal ini sesuai dengan pendapat Naipospos *et al.*, (2014) bahwa hasil kromatogram dapat dipengaruhi oleh *multiple template* dari suatu primer yang digunakan. *Multiple template* yang dimaksud adalah ketika suatu sekuen, dan suatu plot basa nukleotida menghasilkan lebih dari satu jenis basa nukleotida yang disebabkan beberapa faktor, diantaranya primer yang digunakan dan kontaminasi ketika proses ekstraksi DNA juga elektroforesis.

Proses *editing* dan penyejajaran sekuen berdasarkan grafik kromatogram sesuai dengan penelitian Eidhamer (2004) yang menjelaskan bahwa fungsi kromatogram hasil sekuensing dapat dimanfaatkan untuk tahap editing sekuen dan mengidentifikasi adanya mutasi gen.

3. Hasil BLAST (*Basic Local Alignment Sequence*)

Proses BLAST bertujuan untuk membandingkan sekuen nukleotida atau protein pada *database* dan menghitung kecocokannya secara statistik (Pangestika *et al.*, 2015). Hasil *blasting* akan muncul sebanyak 100 sekuen yang memiliki kemiripan secara genetik dengan berbagai macam aksesori yang berbeda.

Dari 100 sekuen diambil sebanyak 20 sekuen dengan spesies yang berbeda tetapi masih dalam satu genus (*Homalomena*). Sekuen yang dipilih harus memiliki nilai *percent identity* di atas 85% (Tabel 4.1). Hasil BLAST sekuen *H. pexa* menunjukkan tingkat homologi pada genus yang bervariasi. Hal tersebut menandakan bahwa sekuen dengan region ITS mampu membedakan *intra* dan *inter* spesies pada tingkat genus. Hal tersebut dikarenakan, DNA *region* inti seperti ITS sering mengalami pindah silang pada saat pembelahan sel sehingga menghasilkan rekombinan yang memiliki banyak variasi genetik. Semakin tinggi variasi genetik, menyebabkan tingkat homologi antar *inter*-spesies semakin rendah (Cheng *et al.*, 2016).

Hasil *blasting* menandakan bahwa ITS dapat mengidentifikasi *similarities* suatu spesies dengan spesies yang lain tingkat genus. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Perwitasari *et al.* (2020). Selain melihat besaran *percent*

identity, perlu untuk dilakukannya pengecekan nilai dugaan (*E-value*). Nilai dugaan yang baik bernilai nol (0) atau dalam tabel BLAST bernilai 0.0, nilai dugaan bernilai nol menunjukkan persejajaran sekuen sangat signifikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Frederick *et al.* (2003) mengatakan bahwa nilai dugaan bernilai signifikan jika mencapai angka <0.05 .

Hasil analisis BLAST sekuen ITS *H. pexa* menunjukkan tingkat homologi dua tertinggi dengan spesies *H. atrox* yang bernomor aksesori JQ955571.1 dan *H. humilis* dengan nomor aksesori JQ413316.1. *Percent identity* atau persentase *similarities* mencapai 99.97% (*H. atrox*), sedangkan *percent identity* tertinggi kedua mencapai 97.73% (Tabel 4.1). Pemilihan kedua sekuen tersebut didasarkan pada Baker (2018) yang menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat kemiripan yang diperoleh maka semakin tinggi homologi antar sekuen tersebut.

4. Analisis *Multiple Alignment Sequence Homalomena pexa* dengan hasil BLAST dengan nilai *percent identity* tertinggi

Alignment dilakukan menggunakan program Clustal-W yang terintegrasi di program MEGA X. Jumlah sekuen yang dianalisis yaitu 22 sekuen yang terdiri atas satu sekuen

sampel *H. pexa*, 20 sekuen spesies *Homalomena* beserta satu spesies dari genus lain (*outgrup*) yaitu sekuen dari *Furtadoa mixta* (Lampiran 2). Pemilihan *F. mixta* sebagai *outgrup* dilakukan berdasarkan Vasconcelos *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa *sister* dari *Homalomena* adalah *Furtadoa* dan *Adelonema*.

Penambahan *outgroup* dilakukan untuk menghasilkan polarisasi karakter atau ciri, karakter yang dimaksud yaitu karakter apomorfik dan plesiomorfik (Hidayat & Pancoro, 2008). Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah dan diturunkan pada *in-group* sedangkan karakter plesiomorfik merupakan karakter primitif yang terdapat pada *outgroup* informasi yang meyakinkan dari sekuen yang berhubungan (Pangestika *et al.*, 2015). *Outgroup* ini sangat dibutuhkan untuk mendapatkan informasi yang meyakinkan dari sekuen yang berhubungan. Pemilihan *F. mixta* sebagai *outgrup* karena muncul dalam 100 sekuen hasil *blasting* yang memiliki *similarities* dengan *H. pexa*.

Penyejajaran sekuen dilakukan dengan menggunakan lebih dari satu sekuen dinamakan *Multiple Aligment Sequence* (MAS). Hasil penyejajaran menunjukkan tingkat homologi yang tinggi di antara sampel yang diamati. Pada hasil penyejajaran sekuen *H. pexa* dengan 21 sekuen hasil BLAST (termasuk *outgrup*) muncul *gap* (ditandai oleh garis putus-

putus), hal yang disebabkan oleh sifat dari daerah ITS1 dan ITS2 sangat variatif (Dewi, 2012). *Gap* menunjukkan terjadinya proses mutasi baik berupa delesi maupun insersi (Lampiran 3). Dari hasil penyejajaran juga terlihat bahwa daerah ITS merupakan daerah dengan evolusi cepat. diperlihatkan oleh banyaknya perbedaan basa di daerah tertentu pada sekuen antara masing-masing spesies.

Dari hasil *alignment* terdapat beberapa perbedaan basa DNA antar sekuen yang berkisar 5% dari total masing-masing panjang sekuen (bp) (Lampiran 7). Pada sekuen *Homalomena* terdapat sekitar 3% basa DNA yang berbeda dengan sekuen lain (Lampiran 8). Hasil penyejajaran menunjukkan bahwa daerah ITS merupakan daerah dengan evolusi cepat, diperlihatkan oleh banyaknya perbedaan basa di daerah tertentu pada sekuen antara masing-masing spesies (Syahputra, 2016).

5. Hasil Kontruksi Pohon Filogenetik menggunakan *Neighbor Joining*

Rekontruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode *Neighbor Joining* dengan *bootstrap* 1000. Hasil dari rekontruksi pohon filogenetik berdasarkan *region* ITS menunjukkan bahwa semua sekuen dari genus *Homalomena* membentuk beberapa *clade*. Nilai *bootstrap* yang terbentuk

cukup variatif. Pada ujung *clade* utama nilai *bootstrap* paling rendah 26% artinya nilai tersebut bukan nilai yang tinggi untuk sebuah nilai kepercayaan suatu cabang, hal ini sesuai dengan pernyataan Hidayat & Pancoro (2008) yang menyatakan bahwa nilai *bootstrap* tinggi apabila pada bilangan >50. Hubungan kekerabatan kedua taksa didukung dengan sedikitnya perbedaan basa antara sekuen ITS (Dewi, 2020). Nilai *bootstrap* paling tinggi bernilai 100%, artinya nilai *bootstrap* tersebut memperlihatkan cukup tingginya tingkat kepercayaan cabang atau simpul yang terbentuk. Penggunaan metode *bootstrap* dalam menentukan tingkat kepercayaan pohon berdasarkan kenyataan bahwa distribusi karakter dalam data sangat dipengaruhi oleh efek acak sehingga semakin besar nilai *bootstrap* yang digunakan maka semakin tinggi tingkat kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi tersebut (Ubaidillah & Sutrisno, 2009)

Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan posisi *H. pexa* berada pada satu *clade* utama dengan spesies *H. atrox* dan *H. humilis*. Dari *clade* utama, *H. atrox* dan *H. humilis* berada pada *clade* cabang dengan nilai *bootstrap* 91%. Hal tersebut memberikan informasi bahwa antara *H. atrox* dan *H. humilis* sangat berkerabat dekat. Pada *clade* utama antara *clade* *H. pexa* dengan *clade* cabang spesies *H. atrox* dan *H. humilis* memiliki nilai *bootstrap* 97% (Gambar 4.3). Hasil

tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yeng *et al.*, (2020) bahwa genus *Homalomena* dengan ciri khas pada bilah daun atau tangkai daun yang berornamen tergolong dalam *Chamaecladon Clade* dan telah dikenal sejak tahun 1920-an. Hingga saat ini jumlah anggota *clade* mencapai 140 spesies termasuk *H. humilis*, *H. atrox* dan *H. pexa* (Yeng & Boyce, 2021).

Metode yang digunakan untuk konstruksi pohon yaitu *Neighbor Joining* dengan parameter Kimura 2. Saitou & Nei (1987) menyatakan bahwa metode *Neighbor Joining* adalah yang paling cocok untuk memprediksi pohon dengan benar. Konstruksi pohon dengan menggunakan metode tersebut mampu menempatkan *outgroup* (*F. mixta*) di *clade* paling bawah dan memisah dengan lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Malik *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa ITS menunjukkan kemampuannya untuk mendiskriminasi sampai dengan tingkat spesies. Hal tersebut diperkuat dengan pernyataan Fazekas *et al.*, (2009) bahwa analisis molekuler dengan DNA *barcoding* akan lebih efektif apabila menggunakan kombinasi *barcode* dari genom nukleus yaitu dengan ITS.

6. Jarak Genetik

Hasil perhitungan kemiripan genetik menunjukkan bahwa derajat kemiripan pada jarak genetik 0,000—0,008 (Tabel 4.2). Berdasarkan nilai jarak genetik seluruh sekuen berada pada nilai <1 artinya rata-rata jarak genetik kecil (dekat). Jarak genetik terjauh (0,084) terdapat pada sekuen *H. rostrata* Sedangkan derajat jarak genetik terdekat (0,01) pada *H. atrox* (Tabel 4.2). Semakin besar nilai derajat kemiripan genetik antara dua aksesori berarti semakin besar kemiripan genetiknya (Hadiyati, 2003). Aksesori-aksesori yang mempunyai nilai derajat kemiripan genetik 1,00 berarti aksesori-aksesori tersebut menunjukkan kemiripan genetik yang mutlak berdasarkan analisis sekuen DNA.

7. Data Aligment Pairwise

Hasil BLAST menampilkan beberapa indikator yang menandakan similaritas suatu sekuen. Beberapa indikator yang menjadi acuan antara lain *percent identity*, Nilai *query*, dan *e-value*. Beberapa indikator tersebut dapat ditelaah secara detail menggunakan *tools alignment* pada saat proses *blasting*.

Pada proses *alignment*, untuk letak *gap* atau sekuen *noise* dapat dilakukan dengan mengambil contoh salah satu

hasil BLAST. Sesuai hasil BLAST yang memberikan informasi *similarities* paling tinggi, maka diambil contoh untuk menganalisa letak gap dengan melihat data *alignment pairwise*. *Alignment pairwise* memberikan data mengenai perbandingan *sequence Query* dilakukan secara berpasangan dengan semua sekuen dalam basis data.

Hasil *alignment pairwise* antara sekuen *H. pexa* dengan *H. humilis* memiliki nilai *gap* 7/881 (98%) dan dari semua panjang sekuen (881 bp) terdapat dua asam nukleotida yang kosong (*gap*). Gap tersebut ditemukan pada sekuen *H. pexa* yang terletak pada panjang sekuen ke 740 bp – 745 bp, 811 bp dan 876 bp *H. pexa* (Gambar 4.4).

Selain *gap*, pada *alignment pairwise* sekuen *H. pexa* dengan *H. humilis* terdapat beberapa basa nukleotida yang tidak sama antara *H. pexa* dengan *H. humilis*, hal tersebut ditandai dengan tidak adanya garis tegak yang menghubungkan kedua basa nukleotida, pada kromatogram sekuen noise dapat dilihat dari keadaan *peak*. Sekuen *noise* (tidak sejajar) terletak pada sekuen ke 193, 196, 722, 768, 806, 807, 821, 831, 857, dan 868. Sekuen *noise* disebabkan tidak seajarnya asam nukleotida antara *H. pexa* dan *H. humilis*. Hal tersebut mempengaruhi nilai *percent identity*, nilai *query*, dan *e-value* (Lampiran 9).

8. Komposisi Nukleotida pada Sekuen *Homalomena pexa*

Komposisi sekuen nukleotida *H. pexa* dengan panjang sekuen 1040 bp adalah T:13, 55 %, C: 35,40%, A: 16, 50%, G: 34, 53%. Jika dibandingkan dengan komposisi sekuen *H. atrox* dan *H. humilis* sesuai dengan hasil BLAST memiliki karakter similaritas tinggi, komposisi sekuen *H. atrox* terdiri dari T: 13,17%, C: 36, 28%, A: 14, 97%, G: 35,56 %. Komposisi sekuen *H. humilis* terdiri dari T: 13, 42%, C: 36,06%, A: 15,35%, G: 35,15%. Selisih masing-masing komposisi basa nukleotida tidak terlalu signifikan, berbeda jika dibandingkan dengan komposisi sekuen genus *Homalomena* lainnya (Tabel 4.2).

Dari semua sampel *Homalomena* memiliki persentase basa nukleotida yang hampir sama. Basa nukleotida paling banyak yaitu guanin (G) dan sitosin (C). Arisuryanti *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa komposisi sekuen region ITS paling banyak mengandung basa nukleotida C. Secara umum, komposisi basa nukleotida pada suatu sekuen tanaman akan menghasilkan persentasi yang berbeda-beda, hal ini tergantung region target yang digunakan. Region ITS memiliki komposisi C yang lebih banyak, sedangkan pada *chloroplast spacer* lebih banyak berupa A dan T (Huang *et al.*, 2005).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sekuen *H. pexa* dapat terkarakterisasi dengan panjang sekuen 1040 bp dan hasil karakter menunjukkan sekuen terdapat beberapa *gap* serta tidak samanya beberapa basa nukleotida dengan sekuen lain. Hasil karakterisasi sekuen memiliki panjang 1040 bp dengan persentase komposisi basa nukleotida diantaranya T:13, 55 %, C: 35,40%, A: 16, 50%, G: 34, 53%.

Homalomena pexa berkerabat dekat dengan *H. humilis* dan *H. atrox* sesuai dengan hasil konstruksi pohon pohon filogenetik menunjukkan posisi *H. pexa* berada pada satu *clade* utama dengan nilai *bootstrap* 97%. Berdasarkan hasil penelitian, ITS menunjukkan kemampuannya untuk mendiskriminasi sampai dengan tingkat spesies.

B. Saran

Melakukan penelitian lebih lanjut dengan menambah penggunaan marka molekul selain ITS untuk analisis filogenetik *H. pexa* berbasis molekuler dalam penelitian

selanjutnya agar hubungan kekerabatan *H. pexa* dengan spesies lainnya dapat dikaji lebih mendalam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Sativa, H.A., Nurhayati, T., Nurimala, M. 2019. Pemanfaatan DNA *Barcoding* untuk Ketertelusuran Label Berbagai Produk Olahan Ikan Berbasis Surimi Komersial. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(3): 508-519.
- Adams, P.B. (2015) *Dendrobium bigibbum* (sect. *Phalaenanthus*) in Australia - Analysis of Diagnostic Characters, Review of Taxa and A New Classification. *Kew Bulletin*. 70 (2), Springer-Verlag London Ltd.
- Al-Mahalli, J. M. & J. M. As-Suyuthi. 2007. *Tafsir al-Jalalyn*. Surabaya: Alharamain Jaya Indonesia.
- Arisuryanti, T., Wei, N-W.V., & Austin, C. 2016. Molecular evidence for determination cryptic species of Indonesian swamp eel populations using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE).
- Asih, N.P.S, Kurniawan, A. 2019. Studi Araceae Bali: Keragaman dan Potensinya. *Jurnal Widya Biologi*, Vol 10. No 2.
- Asih, N.P.S, Warseno, T & Kurniawan, A. 2014. Araceae berpotensi Obat di Kebun Raya “Eka Karya” Bali, *Prosiding Semnas Biodiversitas* vol. 3, no. 1, hal. 84-87
- Baker, S.S. (2018) Using DNA Barcoding to Identify Duckweed Species as Part of An Undergraduate Ecology Course. *ACS Symposium Series*. 1276, 67-79
- Bohari, M., Wahidah B. F. 2015. Identifikasi Jenis-Jenis *Poaceae* di Desa Samata Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*.
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y. & Shiliang, Z. (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.
- Dewi, C.L.H. 2012. "Analisis Biomolekuler Gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) Dalam Studi Filogenetik *Zingiber Loerzingii* Valetton (Zingiberaceae)". Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Biokimia. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Eidhammer. 2004. Protein Bioinformatics: an algorithmic to sequences and structure analysis. John Wiley & Sons. Ltd ISBN: 0-470-84839-1.
- Erlinawati, I & Tihurua, E.F. 2013. Leaf Surface Comparison of Three Genera of Araceae InIndonesia. *Buletin Kebun Raya* vol.16, no.2, hal. 131-145.
- Fahmi, M.R. 2015. Konservasi Genetik Ikan Sidat Tropis (*Anguilla* spp) Waters in Indonesia. *J. Llt Perikan. Ind* vol.21 hal:45-54.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fazekas, A.J., Kesanakurti, P.R., Burgess, K.S., Percy, D.M., Graham, S.W., Barrett, S.C.H., Newmaster, S.G., Hajibabaei, M. & Husband, B.C. (2009) Are Plant Species Inherently Harder to Discriminate than Animal Species Using DNA Barcoding Markers? *Molecular Ecology Resources*. 9 (SUPPL. 1), John Wiley & Sons, Ltd, 130-139.
- Geiser, D.M. 2004. A Higher Level Phylogenetic Clasification of The Fungi. *Mycological research*. Vol. 111: 509-547.
- Graveendel B. 1998. Phylogeny of *Coelogyne* Lindl. (Orchidaceae) Based on Morphology and Cpdna RFLP Data. *Acta Bot. Neerl*. Vol 47. No 23.
- Hariri, M.R., Peniwidyanti, Irsyam, A.S.D., Irwanto, R.R., Martiansyah, I., Kusnadi, Yuhaeni, E. 2021. Molecular Identification and Morphological Characterization of *Ficus* Sp. (*Moraceae*) In Bogor Botanic Gardens. *Jurnal Biodjati*. 6(1):36-44.

- Hartanti, R.E.D.P., Gumiri, S., Sunariyati, s. 2020. Keanekaragaman dan Karakteristik Habitat Tumbuhan Famili Araceae di Wilayah Kecamatan Jekan Raya Kota Palangkaraya. *Journal of Environment and Management*.
- Hidayat T, Pancoro A. 2008. Kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek. *Jurnal AgroBiogen* 4: 35-40.
- Huang SSF, Hwang SY, Lin TP. 2002. Spatial pattern of chloroplast DNA variation of *Cyclobalanopsis glauca* in Taiwan and East Asia. *Molecular Ecology* 11:2349–2358
- Hutasuhut, M.A. 2020. Inventarisasi Araceae di Hutan Sebayak1 Kecamatan Sibolangit Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara. *Jurnal Biolokus* Vol. 3, No 1.
- Ibnukatsironline.com. 2015. Tafsir surat Al-An'am, ayat 9-99. Tafsir Ibnu Katsir(<http://www.ibnukatsironline.com>) diakses pada tanggal 15 Desember 2021
- IPGRI. 1999. *Descriptors for Taro*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome. Italy.
- James, S.A., M. D. Collins, I. N. Roberts. 1996. Use of an r-RNA Internal Transcribed Spacer of The Genera *Zygosaccharomyces* and *Torulaspora*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 46. No.1: 189-194.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Kusuma, Y. W. C., Astuti, I. P. 2009. Population and Microhabitat Characteristic of *Homalomena bellula* Schott in Mount Slamet, Central Java, Indonesia. *Biodiversitas*. Vol. 10. No. 4: 201-205.
- Kurniawan, A., Asih, N. P. S., Yuzammi, P. C. & Boyce. (2013). Studies on the Araceae of the Lesser Sunda Island I:

- New Distribution Record for *Alocasia alba*. *Gardens Bulletin Singapore*
- Letchuman, S. 2018. Shoet Introduction of DNA Barcoding. *International Journal of Research*, 05(04), 673-686
- Malik, S., Priya, A. & Babbar, S.B. (2019) Employing Barcoding Markers to Authenticate Selected Endangered Medicinal Plants Traded in Indian Markets. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 25 (2), Springer India, 327-337.
- Maretni, S. and Mukarlina, M.T., 2017. Jenis-Jenis Tumbuhan Talas (Araceae) di Kecamatan Rasau Jaya Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*, 6(1), 52-52.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- NCBI. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> diakses pada 9 Januari pukul 20:37
- Nicholas FW. 1993. *Veterinary Genetics*. New York: Oxford University Press.
- Narimawati, Umi. 2008. *Metode Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif: Teori dan Aplikasi*. Agung Media. Bandung.
- Naipospos, N., Miftahudin, Sobir. 2014. Identifikasi Morfologi dan Marka Molekuler Terpaut Sifat Tidak Berbunga Jantan Pada Mutan Pisng Kepok. *Journal Hort*. Vol 24 No. 1
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H.P. 2015. Analisis Filogenetik Curcuma zedoaria (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Biologi*. Vol 4 No 4.
- Panorama, M., Muhajirin. 2017. *Pendekatan Praktis Metode Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif*. Palembang: Dea Press Yogyakarta.
- Rahayu, D.D., Jannah, M. 2019. *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan*. Jakarta: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.

- Rimbawanto, A., Widyatmoko. 2006. Keragaman Genetik Empat Populasi Intsia bijuga Berdasarkan Penanda RAPD dan Implikasinya Bagi Program Konservasi Genetik. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, Vol.3: 149-154.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for constructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406 – 425
- Syahputra, B. 2016. “Karakterisasi Molekuler *Elaeidobius Kamerunicus* Faust. (Coleoptera : Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Sekuen DNA. Fakultas Pertanian. Program Studi Agroteknologi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Serussiaux, E. B, Goffinet, J Miadlikowska., & Vitikainen. 2009.. Taxonomy , Phylogeny, & Biogeography of The Lichen Genus *Peltigera* in Papua New Guinea. *Fungal Diversity*. (38): 185-244.
- Soltis, E.D., S.P. Soltis, and J.J. Doyle. 1992. Choosing an Approach and an Appropriate Gene for Phylogenetic Analysis. *Kluwer Academi Publisher. Netherlands.* 2:3-11.
- Sun, Y., et al. 1994. Phylogenetic Analysis of *Sorghum* and Related Taxa Using Internal Transcribed Spacer of Nuclear Ribosomal DNA. *Theor Appl Genet*, 89: 26-32.
- Takono, A, & Okada, 2002. Multiple occurrences of triploid formation of *Gobba atosanguinea* from Sumatra, Indonesia. *Nordic Journal of Botany*, 21(2) 161-164.
- Ubaidillah R, Sutrisno H. 2009. *Pengantar Biosistemik: Teori dan Praktik*. Jakarta: LIPI Press.
- Vasconcelos, S, Soares, M.D.L, Sakuragui, C.M, Croat, T.B., Oliveira, G., Ana, M.B.I. 2018. New Insights on the phylogenetic relationship among the traditional Philodendron subgenera and the other groups of the Homalomena clade (Araceae). *Journal Molecular and Phylogenetic*. 127: 168-178.

- Warseno, T, Asih N.P.S & Kurniawan, A, 2013, Pelestarian dan Pemanfaatan Jenis-Jenis Araceae Sebagai Tanaman Upacara Agama Hindu di Kebun Raya “Eka Karya” Bali. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas* vol. 1 hal. 115-121.
- Wilyasari, R.S, Yulianty, Zulkifli, Nurcahyani, E. 2020. Morphological Characteristics of Araceae Plants in Liwa Botanical Garden, West Lampung. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keaneekaragaman Hayati* vol. 7 hal. 35-40.
- Yen, S W., Jean, T.P., Kiaw, N., Othman, A.S., Bon, L.L., Ahmad, Boye. 2013. Phylogeny of Asean *Homalomena* (Araceae) based on ITS Region Combined with Morphological and Chemical Data. *American Society of Taxonomists*.
- Yen, S W., Hay, A. Boyce,P. 2020. Studies on Homalomeneae (Araceae) of Sumatera VI: Two remarkable new species of *Homalomena* [Chamaecladon Clade]. *Webbia. Journal of Plant Taxonomy and Geography* 75(1): 117-122, 2020
- Zhang et al. 2013. Application of DNA Barcoding in *Roscoea* (Zingiberaceae) and Primary discussion on Taxonomic status of *Roscoea cautleoides* var. *pusbescens*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 52, 14-19.
- Zhao, C., She, X., Liu, E., Harijati, N., Cheng, T., Hu, Z., Jin, S., Diao, Y . 2020. Screening of the Candidate DNA Barcodes for Three Important *Amorphophallus* Species Identification. *Agronomy*, 10,1366.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen *H. pexa*

>1 st_Base_4130074_A_ITS_F

GGNGCGCGAGCGGGCGGTCCGCCGCCCGCGACGAGGCGAGAAGT
CCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGCATCGCATC
TCTCTCTCGACGCACCCGCGAACGGTTGACCCCGACCTTCTATT
AAACTCGCCGGCGGGGCGGAGGCGGGGGCGGACGAACGGTCCCT
CGGCTCTCGGTTATGTACGGCTCGGCTCGGCTGCGTCCGTCCGA
CCGTCCGTCCGCCGCGCCTCCTCCGCCCATCCGCGCGCCCTCCTC
CCCACGCGTCGTCCTCGTCGGCGGCCGCGGGGCGGCGGGACGAC
GAACCTCCCGGCGCGGCCTGCGCCAAGGATCACGTACTGGGGCC
GCCCCGCGCGGGGCTCGCTCTGAGCGGGGAGGTGCGCGGCGTC
GGTCGCCACGAACGAGTCTCCGAACGACTCCCGGCAACGGATAT
CTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACGT
GGTGTGAATTGCAGAATCCCGCGAACCATCGAATCTTTGAACGC
AAGTTGCGCCCCGAGGCCGCCGGGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGG
CGTCACGCCCCGCGTCGCTCCCCGCCCCCTCGCCTGCGGTGCCG
GCACGCACCGCGCGGCGACCGAGGACGGGGACGCGGAGATTGGC
CTGCCGTGCTCCGGTGCGGCGGGCTGAAGACCTCGGCCCTCCCGC
GGGGGCGAGCACGGCGACCGGTGGACGGATTGCGCGCCGCGGGC
ACTGCGGACAGTACGCACTCGTCCTCATGTGCCCGTCGCCGCCG

GACGGAACGGAACGGAACGGAGCTCCGCTTAGTCGCCGCGAGGG
GGAAGGAAAGGAACGGACAAGGAAGAGCCGGCAAGCGAAGGAT
CCCCTCCCGAGCAGATGCGGGCCGTCCTCGGATTGCCACCCCA
GGTCAAGCGGAGACACCCCGGCTNAGTTTACCCTTATAAATAGG
GGGAGGAAAANAAACCTGACAG

>1 st_Base_4130075_A_ITS_R

ATAGGGAGAGAAGGCGGCCGTTCCNTCNCCCGCCCGCAGAAAAA
AAGTACATTAACCCTCTTCATTTTGAGGNAGAAGAAGTCGTAAC
AACGATTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGGCATA
GCATTTCTCTCTTGATGCAACGGTGAACGGTTGACCGCGACCGG
TATATTAAACTCGCCGGCGGGGCGAAGGCGGGGGCGGACGAACG
GTNCCTCGGCTCTCGGTTATGTACGGCTCGGCTCGGCTGCGTCT
GTCNGACCGTCCGTCCGTGCGGCCTCCTCCGCCCATCCGCGCGCC
CTCCTCCCCACGCGTCGTCTCGTTCGGCGGCCGCGGGGCGGCGGG
ACGACGAACCTCCCGGCGCGGCCTGCGCCAAGGATCACGTA CTG
GGGCCGCCCCGCGCGCGGGCCTCGCTCTGAGCGGGGAGGTGCGCG
GCGTCGGTCGCCACGAACGAGTCTCCGAACGACTCCCGGCAACG
GATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGA
TACGTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGCGAACCATCGAATCTTTG
AACGCAAGTTGCGCCCGAGGCCGCCGGGCCGAGGGACGCGCTGC
CTGGGCGTCACGCCCCGCGTCGCTCCCCGCCCCCTCGCCTGCGG
TGCCGGCACGCACCGCGCGGCGACCGAGGACGGGGACGCGGAGA
TTGGCCTGCCGTGCTCCGGTGCGGCGGGCTGAAGACCTCGGCCC

TCCCGCGGGGGCGAGCACGGCGACCGGTGGACGGATTGCGGCGCC
 GCGGGCACTGCGGACAGTACGCACTCGTCTCATGTGCCCCGTCG
 CCGCCGGACGGAACGGAACGGAACGGAGCGCCGCTTAGTCGCCC
 CGAGGGGGAAGGAAAGGAACGGACGAGGAGAGCCGGCGAGCGA
 AGGAACCCACTCCCGAGCAGATGCGGGCCGTCGCTCGGATTGCG
 ACCCCAGGTCAGGCGGGGCCACCCGCCGAGTTTAAGCATATAAA
 TAAGCGGAGGAAAAGAACTTACCAGTTCCCATA

>Sekuen *contig H.pexa*

AAGGCGGGCGGTCCGCCGCCGCGACGAGGCGAGAAGTCCACTG
 AACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCG
 TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGCATCGCATCTCTCTC
 TCGACGCACCCGCGAACGGTTGACCCCGACCCTTCTATTAAACT
 CGCCGGCGGGGCGGAGGCGGGGCGGACGAACGGTCCCTCGGCT
 CTCGGTTATGTACGGCTCGGCTCGGCTGCGTCCGTCCGACCGTCC
 GTCCGCCGCGCCTCCTCCGCCCATCCGCGCGCCCTCCTCCCCACG
 CGTCGTCTCGTCGGCGGCCGCGGGGCGGCGGGACGACGAACCT
 CCCGGCGCGGCCTGCGCCAAGGATCACGTACTGGGGCCGCCCGC
 GCGCGGGCCTCGCTCTGAGCGGGGAGGTGCGCGGCGTCGGTCGC
 CACGAACGAGTCTCCGAACGACTCCCGGCAACGGATATCTCGGC
 TCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACGTGGTGTG
 AATTGCAGAAATCCCGCGAACCATCGAATCTTTGAACGCAAGTTG
 CGCCCGAGGCCGCCGGGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAC
 GCCCCGCGTCGCTCCCCGCCCCCTCGCTGCGGTGCCGGCACGC
 ACCGCGCGGCGACCGAGGACGGGGACGCGGAGATTGGCCTGCCG
 TGCTCCGGTGCGGCGGGCTGAAGACCTCGGCCCTCCCGCGGGGG
 CGAGCACGGCGACCGGTGGACGGATTGCGGCGCCGCGGGCACTGC
 GGACAGTACGCACTCGTCTCATGTGCCCCGTCGCCGCCGGACGG
 AACGGAACGGAACGGAGCTCCGCTTAGTCGCCGCGAGGGGGAAG

GAAAGGAACGGACAAGGAAGAGCCGGCAAGCGAAGGATCCCAC
TCCCGAGCAGATGCGGGCCGTCCTCGGATTGCCACCCCAGGTC
AAGCGGAGACACCCCGGCTNAGTTTACCCTTATAAATAGGGGGA
GGAAAANAAACCTGACAGGTCCCATA

Lampiran 2. *Multiple Alignment Sequence H. pexa, H. humilis, H. atrox*

Alignment: *H.pexa, H.humilis, H.atrox*

.....						
	5	15	25	35	45	55
JQ413316.1	-----A	CCTGCGGAAG	GATCATTGTC	GCATCGCATC	TCTCTCTCGA	
CGCACCCGCG						
JQ955571.	-----	-----	-----	-----TC	TCTCTCTCGA	
CGCACCCGCG						
Homalomena	CGTAGGTGAA	CCTGCGGAAG	GATCATTGTC	GCATAGCATC	TCTCTCTCGA	
CGCAACCGCG						
.....						
	65	75	85	95	105	115

JQ413316.1 AACGGTTGAC CCCGACCCTT CTATTAAACT CGCCGGCGGG GCGGAGGCGG
 GGGCGGACGA
 JQ955571. AACGGTTGAC CCCGACCCTT CTATTAAACT CGCCGGCGGG GCGGAGGCGG
 GGGCGGACGA
 Homalomena AACGGTTGAC CCCGACCCGT ATATTAAACT CGCCGGCGGG GCGAAGGCGG
 GGGCGGACGA

....|....||....||....||....||....|
|....|

	125	135	145	155	165	175
JQ413316.1	ACGGTCCCTC	GGCTCTCGGT	TATGTACGGC	TCGGCTCGGC	TGCGTCCGTC	
CGACCGTCCG						
JQ955571.	ACGGTCCCTC	GGCTCTCGGT	TATGTACGGC	TCGGCTCGGC	TGCGTCCGTC	
CGACCGTCCG						
Homalomena	ACGGTCCCTC	GGCTCTCGGT	TATGTACGGC	TCGGCTCGGC	TGCGTCCGTC	
CGACCGTCCG						

....|....||....||....||....||....|
|....|

	185	195	205	215	225	235
JQ413316.1	TCCGCCGCGC	CTCCTCCGCC	CCTCCGCACG	CCCTCCTCCC	CACGCGTCGT	
CCTCGTCGGC						
JQ955571.	TCCGCCGCGC	CTCCTCCGCC	CCTCCGCACG	CCCTCCTCCC	CACGCGTCGT	
CCTCGTCGGC						

Homalomena	TCCGCCGCGC	CTCCTCCGCC	CATCCGCGCG	CCCTCCTCCC	CACGCGTCGT	
CCTCGTCGGC						
						
						
	245	255	265	275	285	295
JQ413316.1	GGCCGCGGGG	CGGCGGGACG	ACGAACCTCC	CGGCGCGGCC	TGCGCCAAGG	
ATCACGTACT						
JQ955571.	GGCCGCGGGG	CGGCGGGACG	ACGAACCTCC	CGGCGCGGCC	TGCGCCAAGG	
ATCACGTACT						
Homalomena	GGCCGCGGGG	CGGCGGGACG	ACGAACCTCC	CGGCGCGGCC	TGCGCCAAGG	
ATCACGTACT						
						
						
	305	315	325	335	345	355
JQ413316.1	GGGGCCGCCC	GCGCGCGGGC	CTCGCTCTGA	GCGGGGAGGT	GCGCGGCGTC	
GGTCGCCACG						
JQ955571.	GGGGCCGCCC	GCGCGCGGGC	CTCGCTCTGA	GCGGGGAGGT	GCGCGGCGTC	
GGTCGCCACG						
Homalomena	GGGGCCGCCC	GCGCGCGGGC	CTCGCTCTGA	GCGGGGAGGT	GCGCGGCGTC	
GGTCGCCACG						

....						
....	365	375	385	395	405	415
JQ413316.1	AACGAGTCTC	CGAACGACTC	CCGGCAACGG	ATATCTCGGC	TCTCGCATCG	
ATGAAGAACG						
JQ955571.	AACGAGTCTC	CGAACGACTC	CCGGCAACGG	ATATCTCGGC	TCTCGCATCG	
ATGAAGAACG						
Homalomena	AACGAGTCTC	CGAACGACTC	CCGGCAACGG	ATATCTCGGC	TCTCGCATCG	
ATGAAGAACG						
....						
....	425	435	445	455	465	475
JQ413316.1	TAGCGAAATG	CGATACGTGG	TGTGAATTGC	AGAATCCCGC	GAACCATCGA	
ATCTTTGAAC						
JQ955571.	TAGCGAAATG	CGATACGTGG	TGTGAATTGC	AGAATCCCGC	GAACCATCGA	
ATCTTTGAAC						
Homalomena	TAGCGAAATG	CGATACGTGG	TGTGAATTGC	AGAATCCCGC	GAACCATCGA	
ATCTTTGAAC						
....						
....	485	495	505	515	525	535

JQ413316.1	GCAAGTTGCG	CCCGAGGCCG	CCGGGCCGAG	GGCACGCCTG	CCTGGGCGTC
ACGCCCCGCG					
JQ955571.	GCAAGTTGCG	CCCGAGGCCG	CCGGGCCGAG	GGCACGCCTG	CCTGGGCGTC
ACGCCCCGCG					
Homalomena	GCAAGTTGCG	CCCGAGGCCG	CCGGGCCGAG	GGCACGCCTG	CCTGGGCGTC
ACGCCCCGCG					

....					
-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

	545	555	565	575	585	595
JQ413316.1	TCGCTCCCCG	CCCCCCTCGC	CTGCGGTGCC	GGCACGCACC	GCGCGGCGAC	
CGAGGACGGG						
JQ955571.	TCGCTCCCCG	CCCCCCTCGC	CTGCGGTGCC	GGCACGCACC	GCGCGGCGAC	
CGAGGACGGG						
Homalomena	TCGCTCCCCG	CCCCCCTCGC	CTGCGGTGCC	GGCACGCACC	GCGCGGCGAC	
CGAGGACGGG						

....					
-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

	605	615	625	635	645	655
JQ413316.1	GACGCGGAGA	TTGGCCTGCC	GTGCTCCGGT	GCGGCGGGCT	GAAGACCTCG	
GCCCTCCCGC						
JQ955571.	GACGCGGAGA	TTGGCCTGCC	GTGCTCCGGT	GCGGCGGGCT	GAAGACCTCG	
GCCCTCCCGC						

Homalomena	GACGCGGAGA	TTGGCCTGCC	GTGCTCCGGT	GCGGCGGGCT	GAAGACCTCG	
GCCCTCCCGC						
						
						
	665	675	685	695	705	715
JQ413316.1	GGGGGCGAGC	ACGGCGACCG	GTGGACGGAT	TCGGCGCCGC	GGGCACTGCG	
GACAGTACGC						
JQ955571.	GGGGGCGAGC	ACGGCGACCG	GTGGACGGAT	TCGGCGCCGC	GGGCACTGTG	
GACAGTACGC						
Homalomena	GGGGGCGAGC	ACGGCGACCG	GTGGACGGAT	TCGGCGCCGC	GGGCACTGCG	
GACAGTACGC						
						
						
	725	735	745	755	765	775
JQ413316.1	ACTCGTCCTC	GTGTGCCCCGT	CGCCGCCGGA	CGGAACGGAA	CGGAACGGAA	
CGGAGCGCCG						
JQ955571.	ACTCGTCCTC	GTGTGCCCCGT	CGCCGCCGGA	CGGAACGGAA	CGGAACGGAA	
CGGAGCGCCG						
Homalomena	ACTCGTCCTC	ATGTGCCCCGT	CGCCGCCGGA	CGGAACGGAA	CGGAACG---	--
GAGCGCCG						

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
JQ413316.1      785      795      805      815      825      835
AGCGAAGGAA CTTAGTCGCC GCGAGGGGGA AGGAAAGGAA CGGANGAGGA -GAGCCGGCG
JQ955571. CTTAGTCGCC GCGAGGGGGA AGGAAAGGAA CGGACGAGGA -GAGCCGGCG
AGCGAAGGAA CTTAGTCGCC GCGAGGGGGA AGGAAAGGAA CGGACAAGGA AGAGCCGGCA
Homalomena CTTAGTCGCC GCGAGGGGGA AGGAAAGGAA CGGACAAGGA AGAGCCGGCA
AGCGAAGGAA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
JQ413316.1      845      855      865      875      885      895
AGCGGGGCCA CCCACTCCCG AGCAGATGCG GGCCGTCGCT CGGATTGCGA CCCAGTCAG -----
--
JQ955571. CCCACTCCCG AGCAGATGCG GGCCGTCGCT CGGA----- -----
--
Homalomena CCCACTCCCG AGCAGATGCG GGCCGTCACT CGGATTGCCA CCCAGGTCA
AGCGGGGCCA

      ....|....| ....|....|
JQ413316.1      905      915
JQ955571. -----

```

Homalomena CCGCCGAGT TTAAGCATAT

Lampiran 3. Tabel jarak genetik

	F.mixta	H.rubescens	H.humilis	H.tonkinens	H.curvata	H.expedita	H.philippine	H.atrox	H.borneensis
F.mixta									
H.rubescens	0,02500								
H.humilis	0,01740	0,02818							
H.tonkinens	0,03480	0,04080	0,03642						
H.curvata	0,02120	0,00549	0,02581	0,03617					
H.expedita	0,02150	0,02030	0,02583	0,03542	0,01575				
H.philippine	0,01850	0,01971	0,02242	0,03395	0,01502	0,01269			
H.atrox	0,01340	0,02594	0,00120	0,03461	0,02345	0,02348	0,01967		
H.borneensis	0,04680	0,05793	0,04318	0,06050	0,05548	0,05294	0,04964	0,03908	
H.asmae	0,01560	0,02811	0,01925	0,03671	0,02316	0,02196	0,01963	0,01391	0,04882
H.punctulata	0,04240	0,04622	0,04555	0,04329	0,04137	0,03934	0,04212	0,04282	0,06285
H.insignis	0,06310	0,06575	0,06330	0,05788	0,06088	0,05301	0,05447	0,06017	0,06035
H.havilandii	0,06310	0,06695	0,06532	0,06774	0,06209	0,05636	0,05791	0,06510	0,07166
H.vivens	0,07130	0,07852	0,07213	0,07497	0,07613	0,07329	0,07161	0,06807	0,03558
H.sengkenyi	0,07430	0,08068	0,06628	0,07182	0,07826	0,07020	0,06873	0,06200	0,03792
H.clandestina	0,06030	0,07244	0,06710	0,07138	0,07005	0,06590	0,06404	0,06279	0,02112
H.vagans	0,05880	0,06269	0,06337	0,06325	0,05779	0,05557	0,05584	0,06024	0,07358
H.josefii	0,06980	0,07577	0,06412	0,06976	0,07336	0,06781	0,06499	0,05972	0,03548
H.hanneae	0,07090	0,07692	0,06540	0,07091	0,07452	0,06657	0,06626	0,06105	0,03670
H.rostrata	0,07800	0,08405	0,07986	0,08172	0,08161	0,08073	0,07927	0,07483	0,04803
H.pexa	0,02330	0,03380	0,01854	0,04284	0,03151	0,03185	0,02915	0,01338	0,05294

Lanjutan tabel jarak genetik

H.asmae	H.punctula	H.insignis	H.haviland	vivens	H.sengkeny	H.clandesti	H.vagans	H.josefii	H.hanneae
0,03726									
0,05933	0,05712								
0,06563	0,05627	0,05130							
0,07802	0,07053	0,08022	0,08018						
0,06909	0,06812	0,07941	0,08690	0,03465					
0,06712	0,06641	0,07270	0,07779	0,02118	0,03546				
0,06081	0,04862	0,04777	0,03227	0,08235	0,08723	0,07686			
0,06953	0,06726	0,07117	0,07992	0,02781	0,01080	0,03094	0,07637		
0,06953	0,06591	0,07236	0,07854	0,02892	0,00971	0,03091	0,07764	0,00107	
0,08333	0,08476	0,09243	0,09837	0,04211	0,04276	0,04536	0,09591	0,03584	0,03700
0,02542	0,05081	0,07285	0,06905	0,07484	0,07787	0,07002	0,06488	0,07211	0,07325

Lanjutan tabel jarak genetik

[illegible]

Lampiran 4. Perbedaan basa nukleotida antar sekuen *Homalomena*

Species/Abbrev

1. Homalomena pexa
2. KM580744.1 Homalomena rubescens
3. JQ413316.1 Homalomena humilis
4. KM580741.1 Homalomena tonkinensis
5. JX076777.1 Homalomena curvata
6. JX076778.1 Homalomena expedita
7. DQ866881.1 Homalomena philippinensis
8. JQ955571. Homalomena atroa
9. JQ413327.1 Homalomena borneensis
10. JQ413317.1 Homalomena asiae
11. JX076785.1 Homalomena purculata
12. JX076783.1 Homalomena insignis
13. JX076781.1 Homalomena havandii
14. JX076796.1 Homalomena vivens
15. JX076789.1 Homalomena sengkyang
16. JX076775.1 Homalomena claudina
17. JX076809.1 Homalomena vagans
18. JX076784.1 Homalomena josefi
19. JX076779.1 Homalomena hameae
20. JX076786. Homalomena rostrata
21. KM580747.1 Furtadoa mita

Lampiran 5. Perbedaan basa nukleotida *H. pexa* dengan sekuen Homalomena lainnya

Species/Abbrev

1. Homalomena pexa
2. KM580744.1 Homalomena rubescens
3. JQ413316.1 Homalomena humilis
4. KM580741.1 Homalomena tonkinensis
5. JX076777.1 Homalomena curvata
6. JX076778.1 Homalomena expedita
7. DQ866881.1 Homalomena philippinensis
8. JQ955571. Homalomena atroa
9. JQ413327.1 Homalomena borneensis
10. JQ413317.1 Homalomena asiae
11. JX076785.1 Homalomena purculata
12. JX076783.1 Homalomena insignis
13. JX076781.1 Homalomena havandii
14. JX076796.1 Homalomena vivens
15. JX076789.1 Homalomena sengkyang
16. JX076775.1 Homalomena claudina
17. JX076809.1 Homalomena vagans
18. JX076784.1 Homalomena josefi
19. JX076779.1 Homalomena hameae
20. JX076786. Homalomena rostrata
21. KM580747.1 Furtadoa mita

Lampiran 6. Tabel *Alignment pairwise*

```

Query 407  C G C G C G C G G G C C T C G C T C T G A G C G G G A G G T G C G C G C G T C G G T C G C C A C G A A C G A G T C T 466
Sbjct 301  C G C G C G C G G G C C T C G C T C T G A G C G G G A G G T G C G C G C G T C G G T C G C C A C G A A C G A G T C T 360

Query 467  C C G A A C G A C T C C G G C A A C G G A T A T C T C G G C T C T C G C A T C G A T G A A G A A C G T A G C G A A A T 526
Sbjct 361  C C G A A C G A C T C C G G C A A C G G A T A T C T C G G C T C T C G C A T C G A T G A A G A A C G T A G C G A A A T 420

Query 527  G C G A T A C G T G G T G T G A A T T G C A G A A T C C G C G A A C C A T C G A A T C T T T G A A C G C A A G T T G C 586
Sbjct 421  G C G A T A C G T G G T G T G A A T T G C A G A A T C C G C G A A C C A T C G A A T C T T T G A A C G C A A G T T G C 480

Query 587  G C C C G A G G C C G C C G G G C C G A G G G C A C G C T G C C T G G G C G T C A C G C C C C G C G T C G C T C C C C 646
Sbjct 481  G C C C G A G G C C G C C G G G C C G A G G G C A C G C T G C C T G G G C G T C A C G C C C C G C G T C G C T C C C C 540

Query 647  G C C C C C C T C G C C T G C G G T G C C G G C A C G C A C C G C G C G G C G A C G A G G A C G G G G A C G C G G A G 706
Sbjct 541  G C C C C C C T C G C C T G C G G T G C C G G C A C G C A C C G C G C G G C G A C G A G G A C G G G G A C G C G G A G 600

Query 707  A T T G G C C T G C C G T G C T C C G G T G C G G C G G G C T G A A G A C C T C G G C C T C C C C G G G G G C G A G 766
Sbjct 601  A T T G G C C T G C C G T G C T C C G G T G C G G C G G G C T G A A G A C C T C G G C C T C C C C G G G G G C G A G 660

Query 767  C A C G G C G A C C G G T G G A C G G A T T C G G C G C C G G G G C A C T G C G G A C A G T A C G C A C T C G T C C T 826
Sbjct 661  C A C G G C G A C C G G T G G A C G G A T T C G G C G C C G G G G C A C T G C G G A C A G T A C G C A C T C G T C C T 720

Query 827  C A T G T G C C C G T C G C C C C G G - - - - - A C G G A C G G A A C G A A C G G A G C G C G C T T A G T G C G 881
Sbjct 721  C G T G T G C C C G T C G C C C C G G A C G G A A C G G A C G G A A C G G A A C G G A A C G G A A C C C A C T C C C 780

Query 882  C G C G A G G G G A A G G A A G G A A C G G A C A G G A A G A G C C G G C A A G C G A A G G A A C C C A C T C C C 941
Sbjct 781  C G C G A G G G G A A G G A A G G A A C G G A N G A G G - A G A G C C G G C G A G C G A A G G A A C C C A C T C C C 839

Query 942  G A G C A G A T G C G G G C C T C A C T C G G A T T G C C A C C C A G G T C A 982
Sbjct 840  G A G C A G A T G C G G G C C T C G C T C G G A T T G C G A C C C A G - T C A 879

```

Lampiran 7. Sampling *H.pexa* di rumah kaca Lab.Treub



Lampiran 8. Proses penggerusan sampel daun *H.pexa*



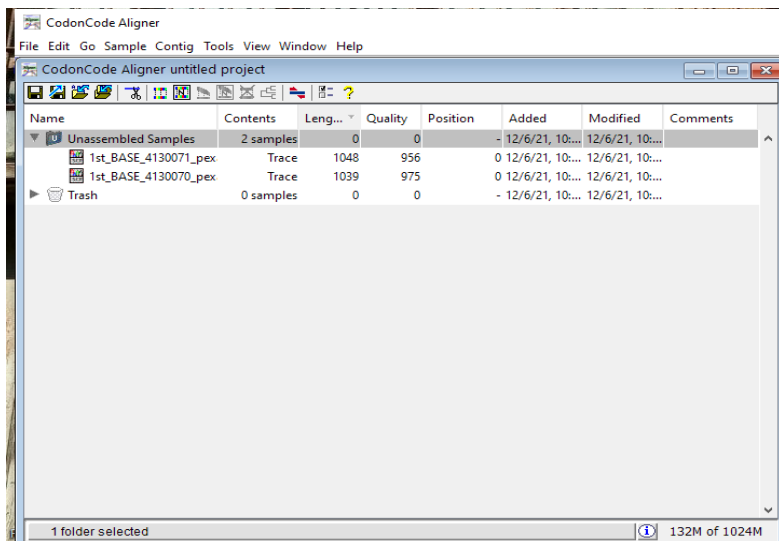
Lampiran 9. Proses elektroforesis menggunakan *nyxteknik*



Lampiran 10. Hasil BLAST di NCBI

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☐	Homalomena.sp. Kelsuke Hase Ar4764 voucher Kelsuke Hase Ar4764 (SAR) 18S ribosomal RNA gene, partial seq	Homalomena.sp.	1753	1753	92%	0.0	99.48%	963	KM580749.1
☐	Furtadoa mixta voucher Bogner s.n. Ar4781 (SAR) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed	Furtadoa mixta	1672	1672	92%	0.0	98.13%	958	KM580747.1
☐	Homalomena.sp. Nakamoto Ar4054 voucher Nakamoto Ar4054 (SAR) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	Homalomena.sp.	1657	1657	90%	0.0	98.41%	970	KM580746.1
☐	Homalomena.sp. SYW-2015a voucher Croat 52968 (MO) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal trans	Homalomena.sp.	1642	1642	93%	0.0	97.13%	969	KM580745.1
☐	Homalomena.sp. Kelsuke Hase Ar4763 voucher Kelsuke Hase Ar4763 (SAR) 18S ribosomal RNA gene, partial seq	Homalomena.sp.	1615	1615	92%	0.0	97.26%	951	KM580748.1
☐	Homalomena.rubescens 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal	Homalomena.rub	1596	1596	95%	0.0	95.80%	991	KM580744.1
☐	Homalomena.humilis voucher AR2371 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, s	Homalomena.hu	1563	1563	84%	0.0	98.75%	881	JQ413316.1
☐	Furtadoa sumatransis voucher Nakamoto Ar4045 (SAR) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal trans	Furtadoa sumatr.	1555	1555	92%	0.0	95.98%	959	KM580743.1
☐	Homalomena.torkinensis voucher P.C. Boyce & S.Y. Wong Ar4302 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, int	Homalomena.ton	1555	1555	92%	0.0	95.86%	965	KM580741.1
☐	Homalomena.curvata voucher AR3053 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, s	Homalomena.cur	1543	1543	90%	0.0	96.50%	934	JX076777.1
☐	Homalomena.xoedita voucher AR2357 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene	Homalomena.ax	1515	1515	87%	0.0	96.72%	920	JX076778.1
☐	Homalomena.curvata voucher AR3052 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene	Homalomena.cur	1511	1511	89%	0.0	96.05%	929	JX076776.1
☐	Homalomena.sp. Melaka internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete seque	Homalomena.sp.	1509	1509	87%	0.0	96.81%	904	JX076752.1
☐	Homalomena.philippinensis internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete s	Homalomena.phil	1500	1500	84%	0.0	97.51%	876	DQ866801.1
☐	Homalomena.sp. Ar3055 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete seque	Homalomena.sp.	1489	1489	87%	0.0	96.29%	907	JX076754.1
☐	Homalomena.atrox voucher AR2309 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, co	Homalomena.atrox	1483	1483	79%	0.0	98.88%	835	JQ955571.1
☐	Homalomena.xoedita voucher AR2357 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene	Homalomena.ax	1474	1474	84%	0.0	97.05%	875	Feedb

Lampiran 11. Proses pembuatan *contign* di aplikasi *Codoncode Aligner*



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap: Risqi Aprilianingsih
2. TTL : Pati 2 April 1999
3. Alamat Rumah : Desa Kebonsawahan 04/01, Kec.
Juwana Kab.Pati
4. No. HP : 085740128453
5. E-mail : risqiaprilianingsih@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal

- a. TK Trisula Kebonsawahan
- b. SD Negeri Kebonsawahan 02
- c. SMP Negeri 1 Juwana
- d. SMA Negeri 2 Pati
- e. S1 UIN Walisongo Semarang

2. Pendidikan Non Formal

- a. Pondok Pesantren Raudlotul Qur'an
Mangkangkulon Tugu Semarang

C. Karya Buku

1. Buku Antologi Puisi "Sepatah Rapalan Untuk Kau Baca" Penerbit Guepedia
2. Buku Antologi Puisi "Syak" Penerbit Guepedia

