

**KARAKTERISASI MOLEKULER KULTIVAR JAMBU
SEMARANG (*Syzygium samarangense* (Blume)
Merr. & L.M. Perry) DARI KABUPATEN DEMAK
MENGUNAKAN *psbA-trnH* INTERGENIC SPACER**

SKRIPSI

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



Oleh : TIARA DWI MEILINA

NIM : 1908016033

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2023**

**KARAKTERISASI MOLEKULER KULTIVAR JAMBU
SEMARANG (*Syzygium samarangense* (Blume)
Merr. & L.M. Perry) DARI KABUPATEN DEMAK
MENGUNAKAN *psbA-trnH INTERGENIC SPACER***

SKRIPSI

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



Oleh : TIARA DWI MEILINA

NIM : 1908016033

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Tiara Dwi Meilina

NIM : 1908016033

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**KARAKTERISASI MOLEKULER KULTIVAR JAMBU
SEMARANG (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M.
Perry) DARI KABUPATEN DEMAK MENGGUNAKAN
*psbA-trnH INTERGENIC SPACER***

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

Semarang, 03 April 2023

Pembuat Pernyataan



Handwritten signature of Tiara Dwi Meilina in black ink.

Tiara Dwi Meilina

NIM: 1908016033



PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Karakterisasi Molekuler Kultivar Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak Menggunakan *psbA-trnH Intergenic Spacer***

Penulis : Tiara Dwi Meilina

NIM : 1908016033

Program Studi : Biologi

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

Semarang, 18 April 2023

DEWAN PENGUII

Penguji I,

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.

NIP. 198709112018012001

Penguji II,

Asri Febriana, M.Si.

NIP. 198902012019032015

Penguji III,

Dr. Lianah, M.Pd.

NIP. 195903131981032001

Penguji IV,

Hafidha Asni Akmalia, M.Sc.

NIP. 198908212019032013

Pembimbing I,

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.

NIP. 198709112018012001

Pembimbing II,

Asri Febriana, M.Si.

NIP. 198902012019032015



NOTA DINAS

Semarang, 03 April 2023

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

Assalamu'alaikum wr. wb.

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

Judul : Karakterisasi Molekuler Kultivar Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak Menggunakan *psbA-trnH Intergenic Spacer*

Penulis : Tiara Dwi Meilina

NIM : 1908016033

Program Studi : Biologi

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

Wassalamualaikum wr. wb.

Pembimbing I,



Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.

NIP. 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, 03 April 2023

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

Assalamu'alaikum wr. wb.

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

Judul : Karakterisasi Molekuler Kultivar Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak Menggunakan *psbA-trnH Intergenic Spacer*

Penulis : Tiara Dwi Meilina

NIM : 1908016033

Program Studi : Biologi

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

Wassalamualaikum wr. wb

Pembimbing II,



Asri Febriana, M.Si.

NIP. 198902012019032015

ABSTRAK

Jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) merupakan salah satu komoditas pertanian yang terletak di Kabupaten Demak, Provinsi Jawa Tengah. Autentikasi dengan *DNA Barcoding* penting dilakukan untuk membuktikan keaslian spesies berbasis DNA karena sulit dibedakan secara morfologi, salah satunya menggunakan *DNA Barcode psbA-trnH*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* pada kultivar jambu semarang (*S. samarangense*) dari Kab. Demak, menganalisis hubungan kekerabatan antara kultivar jambu semarang (*S. samarangense*) dari Kab. Demak dengan data yang terdapat pada *GenBank* berdasarkan gen penyandi *psbA-trnH*, dan menentukan hasil *DNA Barcoding* sekuen DNA kloroplas *psbA-trnH* dapat digunakan dalam autentikasi kultivar jambu semarang (*S. samarangense*) dari Kab. Demak. Data diperoleh dari isolasi DNA sampel jambu semarang dari Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak dengan mengikuti prosedur FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit FAVORGEN. Siklus amplifikasi dilakukan sebanyak 35 kali dan kemudian dielektroforesis. Amplikon disekuensing di *1st BASE DNA Sequencing Services*, Malaysia. Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi BIOEDIT dan MEGA11. Proses *alignment* menggunakan program ClustalW dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining* dengan algoritma Tamura-3 parameter dan nilai *bootstrap replication* 1000x. Hasil penelitian menunjukkan sekuen *psbA-trnH* pada jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berturut-turut memiliki panjang 535 bp dan 492 bp. Komposisi Adenin (A) dan Timin (T) pada kedua kultivar lebih banyak dibandingkan komposisi Sitosin (C) dan Guanin (G). Berdasarkan analisis jarak genetik, hubungan kekerabatan antara jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar

Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berkerabat sangat dekat atau merupakan spesies yang sama karena memiliki nilai matriks jarak genetik 0,000. *DNA Barcode psbA-trnH* tidak dapat mengautentikasi kultivar jambu semarang (*S. samarangense*) dari Kab. Demak. Kemampuan *psbA-trnH* untuk memisahkan kultivar jambu semarang dalam hal ini sangat rendah.

Kata Kunci: Autentikasi, *DNA Barcoding*, Jambu Semarang, *psbA-trnH intergenic spacer*, *Syzygium samarangense*

ABSTRACT

Wax apple (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) is an agricultural commodities located in Demak Regency, Central Java. Authentication with DNA Barcoding is important to prove the authenticity of DNA-based species because it is difficult to distinguish morphologically, one of which uses the DNA Barcode psbA-trnH. This study aims to analyze the characteristics of the psbA-trnH intergenic spacer sequence in wax apple cultivar (*S. samarangense*) from Demak regency, analyze the genetic relationship between wax apple cultivar (*S. samarangense*) from Demak regency with data contained in GenBank based on the DNA barcode psbA-trnH, and determine the results of DNA Barcoding of psbA-trnH chloroplast DNA sequences can be used in wax apple authentication. DNA extraction followed the procedure FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit FAVORGEN. Amplification cycle were performed 35 times and then visualized by electrophoresis. The amplicons were sequenced at 1ST BASE DNA Sequencing Services, Malaysia. Data analysis was performed using the BIOEDIT and MEGA11 applications. Results of the study showed that the psbA-trnH sequence in wax apple (*S. samarangense*) of the Madu Thailand and Madu Deli Hijau cultivars had 535 and 492 bases lengths. The composition of Adenine (A) and Thymine (T) in both cultivars is more than the composition of Cytosine (C) and Guanine (G). The genetic distance between the wax apple (*S. Samarangense*) cultivars of Madu Thailand and Madu Deli Hijau has a close relationship with a matrix value 0.000. DNA Barcode psbA-trnH cannot discriminate the wax apple cultivar (*S. samarangense*) from Demak regency because its ability to separate wax apple cultivars is very low.

Keywords: Authentication, DNA Barcoding, psbA-trnH intergenic spacer, *Syzygium samarangense*, Wax Apple

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Molekuler Kultivar Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak Menggunakan *psbA-trnH Intergenic Spacer*”** di waktu yang tepat. Shalawat serta salam tidak lupa juga penulis limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, serta sahabatnya yang mulia. Semoga kita menjadi salah satu umat yang mendapatkan syafa’atnya di Yaumul Qiyamah nanti.

Skripsi ini disusun guna memenuhi syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang Ilmu Biologi di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak. Selama penyusunan skripsi, ada banyak pihak yang telah berkontribusi dalam membimbing, memberikan semangat dan dorongan, serta memberikan doa demi kelancaran dan kesuksesan penelitian. Oleh karena itu, Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Imam Taufiq, M.A. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;

2. Bapak Dr. H. Ismail, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang;
3. Ibu Baiq Farhatul Wahidah, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang;
4. Ibu Arnia Sari Mukaromah, M.Sc. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta saran selama penelitian dan penulisan skripsi;
5. Ibu Asri Febriana, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta saran selama penelitian dan penulisan skripsi;
6. Ibu Niken Kusumarini, M.Si. selaku dosen wali yang selalu memberikan bimbingan dan arahan selama perkuliahan;
7. Bapak dan Ibu dosen, pegawai, dan sivitas akademik UIN Walisongo Semarang yang telah membantu penulis selama proses perkuliahan;
8. Orang tua saya, Bapak Surawi dan Ibu Iim Betti Kusumahwati, serta saudara saya Aprilia Eka Pratiwi dan Fifteen Putri Ayuningtyas yang selalu memberikan doa, dukungan, kasih sayang, perhatian, dan semangat kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan dan mengatasi permasalahan yang muncul selama perkuliahan hingga penulisan skripsi;

9. Keluarga Biologi 2019 khususnya Rahma, Chika, Azzahro, Untsa, Tika, Laila, dan Amida yang selama ini berjuang bersama penulis menempuh Pendidikan dan mencari ilmu di UIN Walisongo Semarang;
10. Keluarga HMJ Biologi UIN Walisongo Semarang Periode 2020/2021 dan periode 2021/2022 khususnya Saniya, Ani, Zulfa, Silva, Difa, Amin, Faisal, Syaiful, Syifa, Agustine, Daffa, Faza, dan Afni yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan berbagi pengetahuan selama perkuliahan hingga penulisan skripsi;
11. Rekan-rekan Asisten Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang, khususnya Fajar dan Imeh yang selalu memberikan semangat;
12. Rekan-rekan penelitian Jambu Semarang, Mas Ramdhan, Mba Devi, Chika, dan Nazhifa yang selalu memberikan dukungan, bantuan, dan semangat selama penelitian hingga penyusunan skripsi;
13. Sahabat-sahabat saya, Hani, Vio, Shella, Bella, Dinda, Lala, Syafa, dan Annisa yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama perkuliahan hingga penyusunan skripsi;

14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah memberikan dukungan, semangat, dan doa sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, baik dalam sistematika penulisan, pemilihan referensi, diksi, dan beberapa bagian inti didalamnya. Oleh sebab itu, penulis selalu terbuka untuk menerima kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan semua orang. *Aamiin.*

Semarang, 03 April 2023
Penulis,

Tiara Dwi Meilina
NIM. 1908016033

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA DINAS	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR TABEL LAMPIRAN	xx
DAFTAR GAMBAR LAMPIRAN	xxi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	10
A. Kajian Teori	10
1. Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry)	10
a) Klasifikasi.....	10
b) Karakteristik Morfologi.....	11
c) Distribusi.....	15
2. <i>DNA Barcoding</i>	16
3. Wilayah <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	19
4. Keanekaragaman Genetik Tumbuhan dalam Islam.....	22

5. Kajian Hasil Penelitian Terdahulu yang Relevan	24
B. Hipotesis	29
BAB III METODE PENELITIAN	30
A. Tempat dan Waktu Penelitian	30
B. Alat dan Bahan	30
1. Alat	30
2. Bahan.....	31
C. Metode	31
1. Penentuan Lokasi Titik Sampling dan Metode Pengambilan Sampel.....	31
2. Penyimpanan Sampel Tumbuhan.....	33
3. Isolasi DNA.....	34
4. Amplifikasi <i>DNA Barcode psbA-trnH</i>	37
5. Elektroforesis.....	38
6. Analisis Data.....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
A. Deskripsi Hasil.....	43
1. Parameter Lingkungan Lahan Budidaya Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) di Kab. Demak.....	43
2. Isolasi DNA Genom Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) di Kab. Demak.....	44
3. Amplifikasi <i>DNA Barcode psbA-trnH</i> Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak.....	46
4. Sekuens <i>DNA Barcode psbA-trnH</i> Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) di Kab. Demak.....	47

B. Pembahasan	58
1. Parameter Lingkungan Lahan Budidaya Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) di Kab. Demak.....	58
2. Isolasi DNA Genom Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) di Kab. Demak.....	60
3. Amplifikasi <i>DNA Barcode psbA-trnH</i> Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak.....	61
4. Karakteristik Sekuens <i>DNA Barcode psbA-trnH</i> Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak..	63
5. Jarak Genetik Jambu Semarang (<i>Syzygium</i> <i>samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan <i>DNA Barcode</i> <i>psbA-trnH</i>	65
6. Rekonstruksi Pohon Filogenetik Jambu Semarang (<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan <i>DNA Barcode psbA-trnH</i>	67
7. Variasi Genetik Jambu Semarang (<i>Syzygium</i> <i>samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan <i>DNA Barcode</i> <i>psbA-trnH</i>	68
C. Keterbatasan Penelitian	71

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	72
A. Simpulan	72
B. Saran.....	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbedaan Karakter Morfologi Jambu Semarang (<i>S. samarangense</i>) dan jambu air (<i>S. aqueum</i>)	12
Tabel 3.1	Kultivar Jambu Semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak	32
Tabel 4.1	Parameter Lingkungan di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak	43
Tabel 4.2	Komposisi Nukleotida Jambu Semarang Kultivar Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3)	50
Tabel 4.3	Daftar Sekuen Pembandingan Berdasarkan Hasil BLASTn di NCBI	51
Tabel 4.4	Jarak genetik Sampel MT3 dan MG3 dengan spesies <i>Syzygium</i> lain dari NCBI.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry)	11
Gambar 2.2	Morfologi Beberapa Kultivar Jambu Semarang.....	15
Gambar 2.3	Peta Distribusi <i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry	16
Gambar 2.4	Struktur Umum <i>psbA-trnH Intergenic Spacer</i> dan Posisi <i>Annealing</i> Pada Primer ..	20
Gambar 2.5	Diagram Genom DNA Kloroplas Pada Spesies <i>Syzygium cumini</i>	21
Gambar 3.1	Lokasi Pengambilan Sampel Jambu Semarang di Kabupaten Demak.....	33
Gambar 4.1	Hasil visualisasi isolasi DNA genom kelima kultivar jambu semarang.....	45
Gambar 4.2	Hasil visualisasi amplikom DNA jambu semarang menggunakan <i>DNA badcode psbA-trnH</i>	47
Gambar 4.3	Hasil sekuensing yang baik pada arah <i>forward</i> sampel MT3.....	49
Gambar 4.4	Hasil sekuensing yang kurang baik pada arah <i>forward</i> sampel MG3.....	49
Gambar 4.5	Rekonstruksi pohon filogenetik <i>Syzygium samarangense</i> kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berdasarkan metode <i>neighbor joining</i>	56
Gambar 4.6	Hasil penyejajaran sekuens sampel jambu semarang kultivar Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3) dengan <i>S. samarangense</i> aksesori NC_060627.1 menggunakan MultAlin	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sekuen <i>Syzygium samarangense</i> Madu Thailand Hasil Sekuensing	81
Lampiran 2.	Sekuen <i>Syzygium samarangense</i> Madu Deli Hijau Hasil Sekuensing	82
Lampiran 3.	Sekuen <i>Syzygium samarangense</i> Hasil <i>Contig</i>	83

DAFTAR TABEL LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Hasil BLAST di NCBI..... 85

DAFTAR GAMBAR LAMPIRAN

Gambar Lampiran 1. Elektroforegram Sekuen <i>Syzygium samarangense</i> Madu Thailand dan Madu Deli Hijau	87
Gambar Lampiran 2. Hasil <i>Multiple Alignment Sequence S. samarangense</i>	88
Gambar Lampiran 3. Organisasi Gen <i>psbA-trnH</i> Sekuen Jambu Semarang <i>S. samarangense</i> Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau.....	93
Gambar Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	97

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan kondisi geografis seluas 9 juta km² (Kusmana dan Hikmat, 2015) dengan panjang garis pantai sekitar 99.093 km (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2020). Dengan luas wilayah sekitar 1,3% dari luas bumi, Indonesia dijuluki sebagai negara megabiodiversitas karena memiliki tingkat keberagaman kehidupan tertinggi kedua setelah Brasil. Selain itu, Indonesia juga tercatat sebagai pusat sebaran keanekaragaman genetik tumbuhan budidaya atau pertanian yang dikenal juga sebagai pusat *Vavilov* (Kusmana dan Hikmat, 2015). Salah satu pusat budidaya pertanian yang ada di Indonesia yaitu budidaya jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) yang terletak di beberapa wilayah termasuk di Provinsi Jawa Tengah (BPS, 2022).

Kabupaten Demak, Kabupaten Grobogan, dan Kota Tegal merupakan tiga kabupaten atau kota yang tercatat oleh Badan Pusat Statistik Provinsi Jawa Tengah pada tahun 2022 sebagai kabupaten atau kota dengan produksi buah-buahan dan jenis tanaman (kwintal) jambu air tertinggi di Provinsi Jawa Tengah. Pada tahun 2021, Kabupaten Demak tercatat sebagai wilayah dengan nilai produksi buah-buahan dan jenis tanaman jambu air

tertinggi se-Jawa Tengah dengan nilai 164.928 kw. Sementara itu, Kabupaten Grobogan berada di posisi kedua dengan nilai 63.630 kw dan Kota Tegal berada di posisi ketiga dengan nilai 42.862 kw (BPS, 2022).

Jambu semarang merupakan salah satu komoditas pertanian yang sangat menjanjikan dan sangat diminati di Indonesia (Widodo, 2015). Jambu semarang merupakan salah satu jenis buah tropis yang termasuk ke dalam suku *Myrtaceae*. Buah jambu semarang memiliki banyak kandungan diantaranya protein, karbohidrat, kalsium, zat besi, magnesium, *potassium*, *zinc*, *copper*, asam sitrat, fosfor, serat, vitamin C, vitamin A, niacin, riboflavin, thiamin dan sejumlah zat bermanfaat lainnya (Hariyanto, 1993). Buah jambu semarang memiliki banyak kandungan sehingga sering dimanfaatkan sebagai obat diare (Ghayur, 2006), antibakteri (Ratnam dan Raju, 2008), aktivitas imunofarmakologi (Kuo *et al*, 2004). Oleh karena itu, banyak pemulia tanaman yang membudidayakan tanaman ini dan menjadikannya sebagai produk unggulan.

Secara morfologi, kultivar jambu semarang sangat bervariasi terutama pada organ buah yang dapat dilihat dari segi warna, bentuk, dan rasa. Banyaknya kultivar dari jambu semarang menyebabkan sulitnya menentukan jenis asli dari buah ini. Hal ini dikarenakan banyaknya kultivar yang muncul secara terus menerus akibat pemuliaan dan seleksi jambu untuk

menghasilkan komoditas jambu yang unggul. Pemuliaan dan seleksi tersebut mengakibatkan munculnya banyak kultivar pada jambu semarang, misalnya 'Madu Deli Hijau', 'Demak Hijau', 'Citra', dan 'Delima' yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat khususnya di Kabupaten Demak. Kecamatan Gajah merupakan wilayah yang dijadikan sebagai pusat budidaya jambu semarang di Kabupaten Demak. Kultivar jambu semarang yang tumbuh di wilayah yang berbeda akan memunculkan suatu ciri khas tertentu yang dapat diamati secara morfologi pada organ daun dan buahnya (Widodo, 2015). Adanya ciri khas tersebut mendorong peneliti untuk melakukan autentikasi pada beberapa kultivar jambu semarang yang tumbuh di wilayah yang berbeda di Kabupaten Demak.

Autentikasi merupakan proses verifikasi untuk membuktikan identitas (Lal *et al.*, 2016) suatu spesies. Autentikasi di bidang biologi merupakan proses untuk menguji keaslian sampel secara bersamaan karena dapat dilakukan otomatisasi. Teknologi berbasis DNA ini merupakan cara yang efisien, akurat, dan lebih murah untuk memvalidasi identitas suatu spesies. Autentikasi berbasis DNA dapat digunakan sebagai alat untuk mengontrol kualitas dan pemantauan keamanan secara signifikan (Ganie *et al.*, 2015). Pada kultivar jambu semarang, autentikasi penting dilakukan untuk

membuktikan keaslian spesies berbasis DNA karena sulit dibedakan secara morfologi.

Salah satu metode untuk mengautentikasi jenis kultivar jambu semarang adalah *DNA Barcoding* dengan menggunakan kelompok *DNA Barcode* seperti *ITS1*, *ITS2*, *rbcl*, *psbA-trnH*, *trnL-F*, *matK*, dan lain-lain (Omelchenko *et al.*, 2022). Namun hasil penelitian yang dilakukan oleh Mukaromah dan Ulfah (2021) yang menggunakan *DNA Barcode trnL-F* untuk autentikasi jambu semarang kultivar Delima dan Citra di Kabupaten Demak belum dapat digunakan secara menyeluruh dikarenakan adanya *secondary structure* yang menyebabkan hilangnya sinyal elektroferogram sehingga sekuens nukleotida tidak dapat terbaca. Oleh karena itu, perlu dicari *DNA Barcode* lain yang dapat digunakan dalam autentikasi kultivar jambu semarang.

Wilayah atau *region psbA-trnH intergenic spacer* adalah salah satu wilayah yang paling bervariasi dalam genom kloroplas pada tumbuhan angiospermae. Sekuen ini merupakan alat yang populer untuk filogenetik tingkat spesies dan telah diusulkan sebagai sekuen yang cocok untuk studi *DNA barcode* (Štorchová dan Olson, 2007). Menurut Kress *et al.* (2005), wilayah *psbA-trnH intergenic spacer* merupakan wilayah sekuen yang berpotensi untuk menerapkan *barcode* pada tanaman berbunga. Kelebihan sekuen *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode* adalah sekuen ini berpotensi sebagai *barcode* tanaman untuk mengidentifikasi

taksa *angiospermae* yang sangat berbeda (Chen *et al.*, 2010). Menurut Uncu (2020) sekuen *psbA-trnH* telah digunakan sebagai *DNA barcode* dalam autentikasi *almond*, persik, dan aprikot, serta telah diindikasikan sebagai sekuen universal variabel sebagai hasil dari studi filogenetik molekuler. *Barcode psbA-trnH intergenic spacer* adalah urutan universal *non-coding* yang paling umum digunakan dalam filogenetik molekuler tanaman (Hollingsworth *et al.*, 2011).

Urutan *barcode* telah mengakumulasi adanya mutasi struktural, terutama penyisipan atau penghapusan (indel) (Kress, *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2012; Mahadani dan Ghosh, 2014), yang merupakan perangkat genetika molekuler praktis untuk mengklasifikasikan taksa tumbuhan. Sekuen *psbA-trnH* termasuk dalam *intergenic spacer* yang merupakan urutan *non-coding* dalam genom kloroplas untuk mempelajari hubungan spesies pada tingkat taksonomi rendah yang saat ini sedang berkembang pesat (Degtjareva *et al.*, 2012). Oleh karena itu, penelitian untuk menguji keaslian, melihat variasi, dan mengidentifikasi tumbuhan pada tingkat taksonomi rendah sangat diperlukan, sehingga peneliti akan menggunakan *DNA Barcode psbA-trnH intergenic spacer* sebagai alat autentikasi secara molekuler pada kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) yang ada di

Kabupaten Demak agar dapat berkontribusi dalam melestarikan tumbuhan tersebut.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan pada latar belakang, rumusan masalah yang muncul pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* pada kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan antara kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak?
3. Apakah hasil *DNA Barcoding* sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* dapat digunakan dalam autentikasi kultivar tanaman jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang muncul dalam penelitian ini, tujuan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Menganalisis karakteristik sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* pada kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak.
2. Menganalisis hubungan kekerabatan antara kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak dengan data yang terdapat pada *Gene Bank* berdasarkan gen penyandi *psbA-trnH*.
3. Menentukan hasil *DNA Barcoding* sekuen DNA kloroplas *psbA-trnH* dapat digunakan dalam autentikasi kultivar tanaman jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak.

D. Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan pada penelitian ini, manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai sumber rujukan dalam mengautentikasi kultivar tanaman jambu semarang secara molekuler dengan menggunakan sekuen *psbA-trnH Intergenic spacer* sebagai *DNA barcode*. Dalam penelitian di

bidang molekuler, penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan sekuen *psbA-trnH Intergenic Spacer* sebagai *DNA barcode* yang dapat mengklasifikasikan takson tumbuhan dibawah tingkat spesies.

2. Manfaat Praktis

- a. Bagi penulis, penelitian ini dapat menambah wawasan, pengalaman, dan kemampuan penelitian di bidang Biologi Molekuler dan Bioinformatika sehingga dapat menjadi acuan dalam melakukan konservasi genetik tumbuhan.
- b. Bagi masyarakat, penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah untuk melakukan konservasi, pengelolaan, dan pemuliaan terhadap kultivar jambu semarang yang ada di Kabupaten Demak.
- c. Bagi institusi UIN Walisongo Semarang, penelitian ini diharapkan turut berkontribusi dalam mewujudkan Visi UIN Walisongo Semarang untuk menjadi Universitas Islam riset terdepan berbasis kesatuan ilmu pengetahuan pada tahun 2038 dan mewujudkan Misi yang kedua yaitu meningkatkan kualitas penelitian untuk kepentingan ilmu dan masyarakat.
- d. Bagi konservasi genetik, penelitian ini diharapkan turut ikut andil dalam melakukan perlindungan sumberdaya genetik di Indonesia dan menjadi pedoman bagi seluruh pemangku kepentingan dalam memelihara, mengelola, dan

melestarikan keanekaragaman spesies khususnya tanaman jambu semarang di Indonesia.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

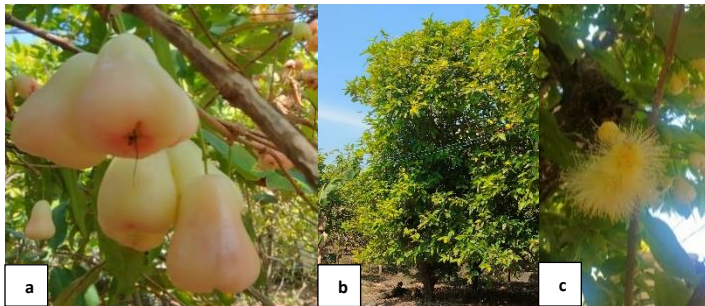
1. Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry)

a) Klasifikasi

Syzygium samarangense (Blume) Merr. & L.M. Perry merupakan tanaman jambu air yang tersebar di berbagai wilayah dari Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Pasifik. Jambu air dengan jenis kultivar yang sama apabila tumbuh di wilayah yang berbeda maka akan memiliki ciri khas tersendiri. Misalnya beberapa kultivar jambu semarang yang tumbuh di Sumatera memiliki daun lebar, tebal, dan kaku, sementara di wilayah Jawa daun jambu semarang umumnya tipis dan sempit. Di Papua banyak jambu semarang dan jambu air berbentuk pipih, dengan tekstur yang keras. Sementara itu, di pulau Jawa umumnya tekstur buah jambu semarang lunak dan berwarna merah muda, dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Klasifikasi Jambu Semarang (*S. samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System* (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Myrtales
Family : Myrtaceae
Genus : *Syzygium*
Spesies : *Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry.



Gambar 2.1. *Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry). a) Buah jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau, b) Pohon Jambu Semarang, c) Bunga Jambu Semarang Kultivar Delima (Dokumentasi Penelitian, 2022)

b) Karakteristik Morfologi

Jambu semarang memiliki variasi yang sangat tinggi diakibatkan oleh lingkungan alam, pertanian, dan hortikultura yang saat ini berkembang dengan pesat. Akibatnya memiliki

varietas jambu semarang yang berbeda-beda dari segi bentuk, warna, dan rasa. Biasanya, untuk membedakan spesies secara morfologi, dapat dilihat dari warna buah (merah atau merah muda atau putih), rasa buah (manis atau kecut), dan permukaan kulit (licin atau kasar) (Widodo, 2015). Perbedaan karakter morfologi antara jambu semarang dan jambu air telah dikarakterisasikan oleh Widodo (2015) yang dapat dilihat pada Tabel 2.1. Buah jambu semarang memiliki 1-6 butir dengan daging buah yang memiliki aroma khas (Anggraheni *et al.*, 2019). Sebagian besar jambu semarang memiliki buah dengan bentuk yang panjang dan bulat serta tekstur yang lunak (Widodo, 2015).

Tabel 2.1 Perbedaan karakter morfologi jambu semarang (*S. samarangense*) dan jambu air (*S. aqueum*)

Karakter	Jambu Semarang	Jambu Air
Pohon	Memiliki ukuran yang bervariasi dari kecil sampai besar	Umumnya berukuran kecil
Daun	Permukaan atas pada pertulangan daun samping umumnya rata	Permukaan atas pada pertulangan daun samping umumnya beralur
Bentuk Buah	Sangat bervariasi (membulat, memipih,	Kurang bervariasi (melonceng dan membentuk kancing)

Karakter	Jambu Semarang	Jambu Air
	melonceng, membulat telur, dan lain-lain)	
Warna Buah	Sangat bervariasi (merah jambu muda, merah, merah jambu tua, hijau tua, putih, hijau muda, kecoklatan, kehitaman)	Umumnya berwarna merah muda keputihan, merah, merah tua, merah muda
Rasa Buah	Manis bercampur sepat	Cenderung asam dan menjadi manis saat tua

Pohon jambu semarang memiliki ukuran yang kecil hingga sedang, dengan tinggi sekitar 4-15 m dengan diameter sekitar 5-40 cm (Widodo, 2015) yang dapat dilihat pada Gambar 2.1. Tangkai pada daun umumnya pendek, bengkok, dan menebal. Helaiannya memanjang, menjorong, sampai melanset dengan ukuran yang bervariasi antara 6-30 cm dengan lebar antara 4-15 cm. Umumnya, daun muda memiliki bau yang harum. Sedangkan pada bunga memiliki tipe majemuk, yang terdiri dari 3, 9, 15, atau lebih bunga (Widodo, 2015) (Gambar 2.1). Rangkaian bunga biasanya tumbuh di ujung, ketiak daun, atau ranting (Anggraheni *et al.*, 2019).

Panjang tangkai bunga bervariasi mulai dari 3-5 mm dan kelopak bunga memiliki ciri setengah lingkaran dengan panjang dan lebar berturut-turut yaitu 3-5 mm dan 8-10 mm. Kelopak bunga memiliki warna kuning putih (Ariyanti *et al.*, 2012). Mahkota bunga terdiri dari empat helai (Hanifa & Haryanti, 2016), bentuknya membulat, panjang 8-12 mm, dan berwarna putih. Benang sari sangat banyak berbentuk seperti paku (Hanifa & Haryanti, 2016), antara 200-500 benang, dengan panjang 3-4 cm (Gambar 2.1). Diameter putik sekitar 1 mm dengan panjang mencapai 4 cm (Widodo, 2015).

Buah jambu semarang umumnya memiliki bentuk seperti lonceng, tangkai semu (pseudostipe) atau tanpa tangkai semu, Biasanya pada jambu yang berbentuk membulat, atau membulat telur terbalik. Namun, ada juga jambu yang memipih secara ertical, dan cekung pada pangkalnya, misalnya beberapa kultivar dari Papua. Ujung buah rata, atau menonjol, berpinggang atau tidak berpinggang. Warna buah bervariasi mulai dari hijau tua, hijau muda, putih, kuning, merah jambu, merah, dan merah tua kehitaman yang dapat dilihat pada Gambar 2.2. Sedangkan untuk rasa buahnya, biasanya memiliki rasa yang manis bercampur sepet, sehingga untuk alasan ini buah jambu semarang bernilai ekonomi tinggi (Widodo, 2015).



Gambar 2.2. Morfologi Beberapa Kultivar Jambu Semarang. a) Kultivar Demak Hijau; b) Citra; c) Merah Delima (Widodo, 2015)

c) Distribusi

Persebaran jambu semarang tersebar di berbagai wilayah dari Asia Selatan sampai Asia Tenggara dan Pasifik. Apabila jambu semarang dengan kultivar yang sama tumbuh di wilayah tertentu maka akan memunculkan ciri khas tertentu. Contohnya adalah daun jambu semarang yang tumbuh di Sumatera dan Jawa memiliki karakteristik daun yang berbeda pada beberapa kultivar. Di Sumatera daun cenderung lebar, kaku, dan tebal, sedangkan di Jawa daun jambu semarang umumnya sempit dan tipis. Perbedaan karakteristik juga dapat dilihat pada buah jambu semarang yang tumbuh di Papua dan Jawa. Buah jambu semarang yang tumbuh di Papua memiliki bentuk yang pipih serta bertekstur keras. Sedangkan buah jambu semarang di pulau Jawa memiliki tekstur buah yang lunak (Widodo, 2015).

Secara ekologis, jambu semarang yang ditanam di dataran rendah akan memiliki rasa yang sangat manis, terutama yang

tumbuh di dekat pantai utara Pulau Jawa. Sehingga daerah pantai utara Pulau Jawa dari timur hingga Barat dijadikan sebagai sentra jambu semarang (Widodo, 2015) termasuk Kabupaten Demak. Menurut data Distribusi Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry tersebar di seluruh Indonesia dapat dilihat pada Gambar 2.3. Spesies ini merupakan tumbuhan yang asli dari Jawa, Kalimantan, Sulawesi, dan Papua, dan introduksi di pulau Sumatera (POWO, 2022).



Gambar 2.3. Peta Distribusi *Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry. Warna hijau menunjukkan asli (*native*), warna ungu menunjukkan introduksi (POWO, 2022)

2. **DNA Barcoding**

DNA barcoding merupakan teknik molekuler yang dikembangkan sebagai metode yang cepat dan praktis untuk mengidentifikasi organisme pada tingkat spesies menggunakan sekuens DNA spesifik (Hebert *et al.*, 2003). *DNA barcoding* digunakan sebagai alat molekuler untuk mengidentifikasi organisme yang tidak diketahui dari sejumlah kecil jaringan yang

diproses melalui pengurutan wilayah genom standar. Sekuen ini kemudian dapat dibandingkan dengan satu set sekuen yang dihasilkan dari spesimen yang sebelumnya telah diidentifikasi dengan baik yang dapat dengan mudah diakses untuk mengkonfirmasi taksonomi (Cowan *et al.*, 2006).

Dengan mengikuti perkembangan teknologi DNA sekuensing yang cepat, efisien, dan dapat diakses, *DNA barcoding* dikembangkan sebagai sistem baru berdasarkan sekuen DNA dan digunakan untuk mengidentifikasi organisme hidup. Metode ini dilakukan dengan memilih satu atau beberapa lokus standar yang dapat diurutkan, dan menghasilkan data yang mudah dibandingkan sehingga memungkinkan spesies untuk membedakan satu sama lain. Sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Pang *et al.*, (2012), *DNA barcoding* didasarkan pada keragaman urutan dalam wilayah gen pendek dan standar untuk membedakan spesies. Aplikasi *DNA barcoding* biasanya dapat digunakan di berbagai bidang seperti untuk mengendalikan hama pertanian, pelestarian sumber daya alam, melindungi spesies yang terancam punah, pemantauan kualitas air, dan identifikasi tanaman obat (Hebert *et al.*, 2003).

DNA barcoding adalah alat baru untuk identifikasi spesies dan untuk penelitian taksonomi. *DNA barcode* menggunakan urutan DNA pendek bukan seluruh genom dan digunakan untuk

organisme eukariot. Urutan DNA pendek diambil dari daerah standar genom untuk menghasilkan *DNA barcode*. *DNA barcode* adalah urutan DNA pendek yang terbuat dari empat nukleotida A (Adenin), T (Timin), C (Sitosin) dan G (Guanin). Setiap nukleotida diwakili oleh warna unik dalam *DNA barcode* (Kaur, 2013). Terdapat dua langkah dasar dalam melakukan *DNA barcoding*, yaitu:

- 1) Membuat *database barcode* pada spesies yang diidentifikasi. Langkah ini membutuhkan keahlian ekologis dalam memilih satu atau beberapa individu per spesies sebagai sampel referensi di *database*.
- 2) Memeriksa urutan *barcode* dari sampel yang tidak diketahui dengan *database barcode* (dikenal sebagai penyejajaran urutan atau *alignment*) untuk identifikasi.

Sampel jaringan dapat dikumpulkan dari spesies hidup yang dikoleksi langsung di lapangan atau dari spesimen di museum untuk diidentifikasi. Spesimen ini akan melalui proses laboratorium yaitu pengambilan sampel jaringan dan pengolahan serta sekuensing DNA untuk menghasilkan *DNA barcode* dalam bentuk kromatogram. Kromatogram adalah representasi visual dari urutan DNA yang dihasilkan oleh *sequencer*. *Barcode* ini kemudian dapat disimpan dalam *database* untuk digunakan di masa mendatang atau dapat digunakan

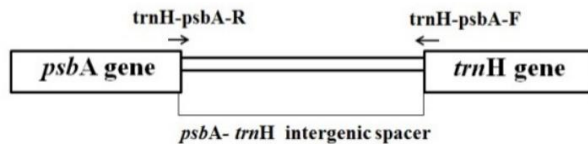
sebagai urutan *query* untuk dibandingkan dengan urutan yang sudah ada dalam *database* (Kress *et al.*, 2012).

3. Wilayah *psbA-trnH intergenic spacer*

Intergenic Spacer merupakan urutan *non-coding* yang biasanya digunakan untuk mempelajari hubungan pada tingkat taksonomi rendah. Meluasnya penggunaan sekuen nukleotida dalam studi hubungan antar organisme telah menyebabkan pengembangan pendekatan *DNA barcode*, yaitu pada beberapa wilayah, DNA digunakan untuk mengidentifikasi spesies. Berdasarkan hasil analisis dataset, yang mencakup sejumlah perwakilan dari tumbuhan monokotil dan dikotil, menunjukkan bahwa kloroplas *psbA-trnH intergenic spacer* merupakan sekuen yang paling berhasil diamplifikasi menggunakan primer universal, dan memiliki rasio panjang dan jumlah posisi informatif yang optimal bila dibandingkan dengan urutan genom *non-coding* lainnya (Kress, *et al.* 2005).

Region *psbA-trnH intergenic spacer* adalah salah satu wilayah yang paling bervariasi dalam genom kloroplas pada tumbuhan angiospermae. Sekuen ini merupakan alat yang populer untuk filogenetik tingkat spesies dan telah diusulkan sebagai sekuen yang cocok untuk studi *DNA barcode* (Štorchová dan Olson, 2007). *Spacer* ini terletak di antara gen *psbA* dan gen histidin

transfer RNA (*trnH*) (Gambar 2.4) dan berperan penting dalam regulasi ekspresi gen tersebut. Pada spesies *Syzygium cumini*, letak *psbA-trnH intergenic spacer* dapat dilihat pada Gambar 2.5. Gen *psbA* mengkode protein D1, yang bersama-sama dengan protein D2 terdiri dari pusat reaksi fotosistem II. Pada sebagian besar angiospermae, termasuk wortel (*Daucus carota*) dari keluarga Umbelliferae, gen ini terlokalisasi di wilayah salinan tunggal yang besar (Degtjareva *et al.*, 2012).

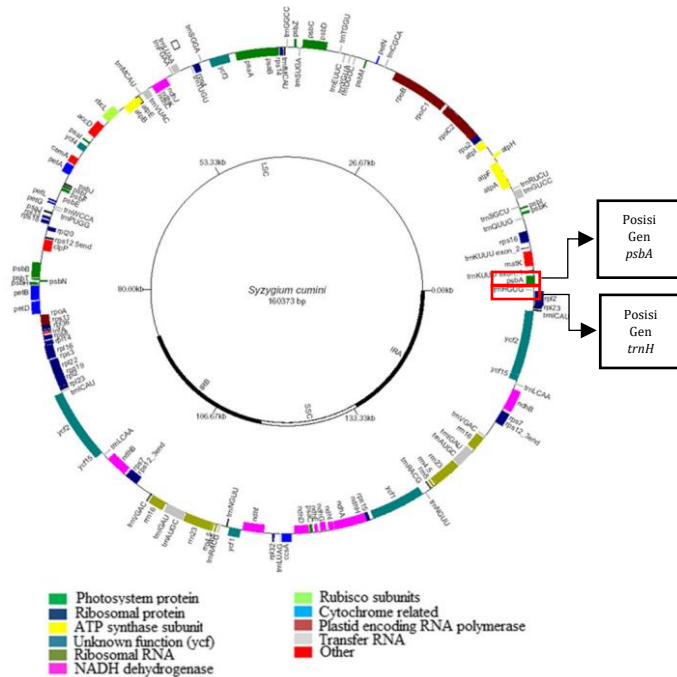


Gambar 2.4. Struktur Umum *psbA-trnH Intergenic Spacer* dan Posisi *Annealing* Pada Primer (Phoolcharoen dan Sukrong, 2013)

Kelebihan sekuen *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode* yaitu sekuen ini berpotensi sebagai *barcode* tanaman untuk mengidentifikasi taksa angiospermae yang berbeda (Chen *et al.*, 2010). Kekurangan dari sekuen *psbA-trnH* telah ditelaah oleh Balkanska *et al.* (2020) yaitu identifikasinya yang masih terbatas. Hal tersebut dapat dijelaskan dengan pada beberapa kelompok tumbuhan, *psbA-trnH* tidak cukup bervariasi untuk membedakan spesies yang berkerabat dekat (Whitlock *et al.*, 2010) serta kurangnya sekuensing *psbA-trnH* untuk spesies tumbuhan yang terdapat dalam database. Wilayah *psbA-trnH*

intergenic spacer mengandung dua bagian yang berbeda dalam konservasi evolusionernya, yaitu sebagai berikut: (Štorchová dan Olson, 2007)

- 1) Wilayah *psbA* 3'UTR merupakan wilayah yang penting untuk regulasi pascatranskripsi ekspresi gen *psbA*
- 2) *Intergenic Spacer* non-transkripsi *psbA-trnH*, yang kurang berfungsi karena variabilitasnya yang tinggi di seluruh angiospermae.



Gambar 2.5. Diagram Genom DNA Kloroplas Pada Spesies *Syzygium cumini* (Asif *et al.*, 2013). Posisi *psbA-trnH* ditunjukkan pada kotak merah.

4. Keanekaragaman Genetik Tumbuhan dalam Islam

Keanekaragaman genetik merupakan salah satu dari ketiga macam keanekaragaman hayati. Adanya keanekaragaman genetik merupakan bukti kekuasaan Allah SWT sang pencipta alam semesta. Keanekaragaman menunjukkan variasi yang ada diantara makhluk hidup, baik manusia, hewan, maupun tumbuhan. Sebagaimana dalam surat Fatir (35) ayat 28, Allah SWT berfirman:

وَمِنَ النَّاسِ وَالدَّوَابِّ وَالْأَنْعَامِ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ كَذَلِكَ إِنَّمَا
يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ الْعُلَمَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَزِيزٌ غَفُورٌ

Artinya: *“(Demikian pula) di antara manusia, makhluk bergerak yang bernyawa, dan hewan-hewan ternak ada yang bermacam-macam warnanya (dan jenisnya). Di antara hamba-hamba Allah yang takut kepada-Nya, hanyalah para ulama. Sesungguhnya Allah Maha Perkasa lagi Maha Pengampun.”* (Q.S. Fatir (35): 28)

Ayat tersebut menjelaskan tentang keanekaragaman dan variasi yang terdapat pada makhluk hidup. Variasi tersebut dapat diamati secara langsung yang menampakkan keberagaman karakteristik makhluk hidup yang dapat dilihat berdasarkan ukuran, warna, bentuk, dan struktur tubuh suatu makhluk hidup (Salam, 1994).

Dalam Tafsir Tahlili, "*bermacam-macam warnanya (dan jenisnya)*" ditafsirkan sebagai 'Allah menciptakan binatang melata dan binatang ternak, yang bermacam-macam warnanya sekalipun berasal dari jenis yang satu. Bahkan ada binatang yang satu, tetapi memiliki warna yang bermacam-macam'. Ayat tersebut memberikan penjelasan tentang hal-hal yang menunjukkan kesempurnaan dan kekuasaan Allah SWT (Kementerian Agama RI, 2023).

Dalam Tafsir Al-Munir, ayat ini ditafsirkan sebagai bukti kekuasaan Allah melalui keragaman yang terjadi pada makhluk hidup. Dari perbedaan-perbedaan tersebut, seseorang yang terbuka hati dan pikirannya akan mengetahui bahwasanya perbedaan tersebut berasal dari Allah SWT sang Maha Pencipta, sehingga hal ini bisa menjadi sesuatu yang menyebabkan seseorang dapat mengenali kekuasaan Allah dan takut pada-Nya (Az-Zuhaili, 2018).

B. Kajian Hasil Penelitian Terdahulu yang Relevan

Beberapa penelitian terdahulu yang relevan dengan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a) *Organization of Chloroplast psbA-trnH Intergenic Spacer in Dicotyledonous Angiosperms of the Family Umbelliferae.*

Artikel penelitian yang dilakukan oleh Degtjareva *et al.* (2012), memberikan informasi tentang potensi *psbA-trnH* untuk digunakan sebagai *DNA barcode* dan penanda filogenetik pada suku Umbelliferae. Pada artikel ini, *psbA-trnH intergenic spacer* diyakini sebagai *DNA barcode* yang dapat bekerja pada level taksonomi rendah. Hasil penelitian mengungkapkan karakteristik khusus dalam *spacer* yang digunakan sebagai penanda filogenetik, dan lebih informatif untuk melihat insersi dan delesi daripada substitusi nukleotida. Namun, penelitian ini juga mengungkapkan pembatasan penerapan *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode* untuk konservasi tinggi di antara taksa karena adanya inversi homoplastik dalam struktur batang-loop.

- b) *Utility of the trnH-psbA Intergenic Spacer Region and Its Combinations as Plant DNA Barcodes: A Meta- Analysis.*

Penelitian yang dilakukan oleh Pang *et al.* (2012), memaparkan penilaian secara menyeluruh terhadap sekuen *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode*. Banyak penelitian yang menggunakan *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode*, namun

kebanyakan penelitian tidak melakukan pemeriksaan pada wilayah *psbA-trnH* dan hanya fokus untuk meneliti kelompok tumbuhan tertentu. Pang *et al.* (2012), berpendapat bahwa hal tersebut dapat berdampak negatif terhadap keberhasilan sekuen dalam mengidentifikasi spesies. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk melakukan meta-analisis berdasarkan data yang tersedia di database untuk menilai kegunaan *psbA-trnH* dan kombinasinya dengan *DNA barcode* lain sebagai *DNA barcode* tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi antara *psbA-trnH* dengan *ITS2* lebih unggul dibandingkan dua penanda populer lainnya (*matK* dan *rbcl*) untuk mengidentifikasi spesies pada 47 suku dan 71 genus. Dari hasil yang diperoleh, penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi antara *psbA-trnH* dengan *ITS2* dapat menjadi *DNA barcode* tanaman yang lebih unggul dibandingkan *barcode* inti.

c) *Identification of Durik-Durik Plant (Syzygium sp.) Using The psbA-trnH Intergenic Spacer and ITS Regions*

Penelitian yang dilakukan oleh Roslim *et al.* (2016), melakukan identifikasi pada tumbuhan Durik-Durik yang berasal dari Danau Kajuik, Provinsi Riau, Indonesia yang belum diketahui nama spesiesnya. Sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* dan *ITS* digunakan sebagai *DNA barcode* untuk mengetahui status taksonomi tumbuhan tersebut. Hasil penelitian

menunjukkan Durik-Durik memiliki kemiripan dengan spesies *Syzygium malaccense* dan *Syzygium nervosum* dengan nilai identitas mencapai 94% dan 96%. Berdasarkan analisis cluster, Durik-Durik diklasifikasikan sebagai *S. nervosum*. Namun, karena nilai identitas antara Durik-Durik dan *S. nervosum* tidak mencapai 100%, maka *DNA barcode psbA-trnH* belum dapat mengidentifikasi tumbuhan Durik-Durik.

d) *A trnH-psbA barcode genotyping assay for the detection of common apricot (Prunus armeniaca L.) adulteration in almond (Prunus dulcis Mill.).*

Penelitian oleh Uncu (2020), telah mengembangkan uji berbasis DNA untuk autentikasi *almond* yang membuktikan identitas produk dan mengungkapkan pemalsuan secara bersamaan. Sekuen *psbA-trnH* digunakan sebagai *DNA barcode* untuk menguji keaslian *almond*. Sebanyak lima kultivar *almond*, tiga kultivar aprikot, dan tiga kultivar persik digunakan sebagai sampel autentikasi. Hasil penelitian menunjukkan *almond*, aprikot, dan persik berhasil dibedakan dengan menargetkan *psbA-trnH intergenic spacer* kloroplastik. Penelitian ini menyatakan bahwa *DNA barcode psbA-trnH* berpotensi tinggi untuk digunakan sebagai penanda keaslian atau uji autentikasi berbasis DNA.

e) *A Preliminary Assessment of trnH-psbA As DNA Barcode For Botanical Identification of Polyfloral Honey Samples And Comparison With rbcL Marker*

Penelitian yang dilakukan oleh Balkanska *et al.* (2020), mengidentifikasi sampel madu poliflora yang diperoleh dari wilayah Sofia, diantaranya yaitu Kostinbrod (Ks), Kubratovo (Kb) dan Chepinci (Ch) pada tahun 2017. Penelitian ini melakukan perbandingan antara *DNA barcode psbA-trnH* dengan *rbcL* untuk mengidentifikasi sampel tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menilai efisiensi *psbA-trnH* sebagai *DNA barcode* untuk identifikasi tumbuhan dan membandingkan data dengan hasil yang diperoleh untuk *DNA barcode rbcL* sebagai pendekatan kompleks untuk identifikasi tumbuhan pada sampel madu poliflora. Hasil penelitian menunjukkan sampel Ks yang diidentifikasi menggunakan *DNA barcode psbA-trnH* mampu memperkirakan empat suku tumbuhan dan tiga genus dari tujuh suku tumbuhan yang sebelumnya diamati menggunakan *DNA barcode rbcL*. Tiga suku lainnya (Pinaceae, Apiaceae, Chenopodiaceae) diidentifikasi dengan *DNA barcode psbA-trnH*. Untuk sampel Ch dan Kb yang berhasil diidentifikasi dengan *DNA barcode psbA-trnH* hanya enam suku tumbuhan dan tujuh genus dari 16 famili tumbuhan dan 19 genus. Selain itu, hanya empat

suku tumbuhan baru (Chenopodiaceae, Pinaceae, Salicaceae dan Rhamnaceae) pada kedua sampel yang berhasil diidentifikasi dengan *DNA barcode psbA-trnH*. Hasil penelitian juga menyimpulkan bahwa *psbA-trnH* merupakan *barcode* yang cocok untuk menganalisis keanekaragaman tumbuhan pada madu. Komposisi polen madu sangat dipengaruhi oleh keanekaragaman hayati floristik lokal. Namun, kekurangan yang ditemukan pada penelitian ini yaitu pengurutan sekuen pada wilayah *psbA-trnH intergenic spacer* untuk spesies tanaman dalam database masih kurang.

f) *DNA barcode trnH-psbA is a promising candidate for efficient identification of forage legumes and grasses Miguel.*

Artikel penelitian oleh Loera-Sánchez *et al.* (2020), menentukan *DNA barcode* terbaik pada tanaman dari sekuen *rbcLa*, *matK*, dan *psbA-trnH* dalam membedakan 16 spesies rumput dan legum atau kacang-kacangan. Sebanyak 16 species yang terdiri dari 2-3 jenis kultivar digunakan sebagai sampel. Hasil penelitian menunjukkan *DNA Barcode psbA-trnH* merupakan kandidat terbaik untuk *DNA barcoding* berskala besar untuk beberapa spesies kacang-kacangan dan beberapa kultivar rumput. Namun, pada penelitian ini juga menyarankan penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan

urutan referensi di spesies yang lain. *DNA barcode psbA-trnH* merupakan kandidat yang paling menjanjikan dan dapat mendukung pemantauan keanekaragaman hayati tanaman dalam skala yang lebih besar.

C. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang terbentuk, maka hipotesis penelitian ini yaitu:

H0: hasil *DNA Barcoding* sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* tidak dapat digunakan dalam autentikasi kultivar tanaman jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak secara molekuler.

H1: hasil *DNA Barcoding* sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* dapat digunakan dalam autentikasi kultivar tanaman jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kabupaten Demak secara molekuler.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2022 – Februari 2023 di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang. Pengambilan sampel dilaksanakan di Desa Boyolali, Kecamatan Gajah, Kabupaten Demak (6°52'54.7 LS, 110°44'12.0 BT).

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat gelas (Pyrex), autoklaf (Hirayama), neraca analitik (Mettler Toledo), *Gel Documentation set* (Biorad), *thermal cycler* (Thermo Fisher Scientific), elektroforesis kit (Mupid-exu), set mikropipet (Biorad), PCR-Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific), *centrifuge* (Eppendorf), *oven* (Elektrolux), gel silika, *vortex* (Biorad), *Drybath* (Biorad), *spin down* (Biorad) kontainer nitrogen cair (*lock n lock*), mortar, *pestle*, spatula, gunting, rak microtube, microwave (Electrolux), kulkas (AQUA), *refrigerator* (ESCO), *thermohyrometer* (Haar Synth Hygro), *soil pH meter* (iTuin), GPS, *luxmeter* (struman), *altimeter* (OEM), dan kamera canon.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aluminium foil (Best Fresh), nitrogen cair, FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit FAVORGEN, primer *psbA-trnH* (Reverse dan Forward), primer *rbcl* (Reverse dan Forward), MyTaq HS Red Mix 2X (Meridian), *loading dye* (6X) (Genaid), serbuk agarose (GeneDireX), GelRed (Biorad), TBE (Tris Borat EDTA) buffer 1X (Merck), akuabides steril, *Nuclease free water* (Thermo Scientific), *DNA Ladder* (100 bp, 1 kb; Norgen), *pipet tip* (blue, yellow, white; Biologix), *microtube* 1,5 mL (Biologix), *microtube* 200 µL (Biologix), *Conical Tube* (Biologix), etanol absolut (Merck), isopropanol (Merck), alkohol 70%, akuades steril, etanol absolut (Merck), masker, *gloves*, *tissue*, kantung teh, dan plastik.

C. Metode

1. Penentuan lokasi titik sampling dan metode pengambilan sampel

Lokasi titik sampling ditentukan berdasarkan data dari Dinas Pertanian Kabupaten Demak dan hasil wawancara dengan petani jambu semarang. Lokasi pengambilan sampel kutivar jambu semarang ditentukan menggunakan metode *purposive sampling* pada lahan budidaya jambu semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak (6°52'54.7 LS, 110°44'12.0 BT).

Beberapa pertimbangan yang harus dipenuhi yaitu pada satu lokasi sampling terdapat beberapa kultivar jambu semarang didalamnya, sampel daun jambu semarang yang diambil merupakan daun dewasa (bukan daun muda atau daun tua; urutan nomor 3-5 dari pucuk), dan sehat. Pada lokasi budidaya jambu semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak terdapat lima kultivar jambu semarang yang disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kultivar Jambu Semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak

No.	Jenis Kultivar Jambu Semarang	Kode Akses	Lokasi
1.	Citra	CG3	Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak
2.	Delima	DG3	
3.	Madu Deli Hijau	MG3	
4.	Madu Thailand	MT3	
5.	Madu Merah	MM	

Data parameter lingkungan diambil di lokasi budidaya jambu semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak. Beberapa parameter lingkungan yang diukur yaitu ketinggian lokasi lahan budidaya menggunakan altimeter, suhu dan

daun diseka menggunakan *tissue* kering hingga daun bersih dari kotoran ataupun hama yang masih menempel. Pada tahap ini, daun jambu semarang harus dipastikan bersih, jangan sampai ada kotoran untuk mencegah kontaminasi jamur pada saat penyimpanan.

Kantung teh yang sudah diberi label berisi nama kultivar beserta kode aksesinya disiapkan untuk menyimpan sampel daun. Selanjutnya, sampel daun jambu semarang dilipat dan dimasukkan ke dalam kantong teh secara hati-hati. Silica gel dimasukkan ke dalam plastik *ziplock* dan dimasukkan ke dalam kantong teh pada tahap sebelumnya. Langkah yang terakhir yaitu *plastic ziplock* diberi label yang berisi nama kultivar, tanggal koleksi, beserta kode aksesinya pada permukaan plastik.

3. Isolasi DNA

Daun dari kultivar jambu semarang diambil untuk diisolasi DNA-nya menggunakan FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit FAVORGEN (50 Preps). Adapun langkah-langkah isolasi DNA yaitu sebagai berikut:

a) Tahap Penghancuran Jaringan

Daun jambu semarang kering dipotong-potong menjadi ukuran kecil menggunakan gunting steril dan dimasukkan ke mortar dan *pestle* dingin yang sudah disterilkan menggunakan

alkohol. Nitrogen cair ditambahkan dalam mortar dan daun digerus hingga berbentuk serbuk atau bubuk dengan sempurna. Sebanyak 20 mg serbuk daun ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan dalam microtube 1,5 mL.

b) Tahap Lisis

Sebanyak 400 μL FAPG1 buffer dan 8 μL Rnase A stok (50mg/ml) dimasukkan ke dalam *microtube* dan divorteks untuk dihomogenkan. Kemudian sampel diinkubasikan pada suhu 65°C selama 20 menit. Selama inkubasi, microtube 1,5 mL diinversi setiap 3 menit. Pada waktu yang bersamaan, *elution buffer* (50 μL /sampel) dipanaskan pada suhu 65°C. Sebanyak 130 μL FAPG2 Buffer ditambahkan pada microtube 1,5 mL dari tahapan sebelumnya, kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu 0°C selama 5 menit.

Filter column ditempatkan pada *collection tube* dan campuran dipindahkan ke filter column. Selanjutnya sampel disentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm dan dibuang filter column. Supernatan dalam *collection tube* dipindahkan dalam microtube 1,5 mL baru secara hati-hati dan dibuang *collection tube*. Volume supernatant yang diambil, dicatat untuk menyesuaikan volume FAPG3 buffer pada tahap selanjutnya.

c) Tahap *DNA Binding*

FAPG3 buffer (telah ditambahkan etanol 96%) ditambahkan dalam sampel sebanyak 1,5 kali dari volume *supernatant* yang sebelumnya telah dipindahkan dan dilakukan *pipetting (up and down)*. FAPG column ditempatkan pada *collection tube* dan sebanyak 750 μL campuran dipindahkan ke FAPG column dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. *Flow-through* pada *collection tube* dibuang dan FAPG column dipasang kembali ke *collection tube*. Sisa campuran dimasukkan kembali ke FAPG column dan campuran disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik. *Flow-through* pada *collection tube* dibuang dan FAPG column dipasang kembali ke *collection tube*.

d) Tahap *Wash*

Sebanyak 400 μL W1 buffer ditambahkan pada FAPG column dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik. *Flow-through* pada *collection tube* dibuang dan FAPG column ditempatkan kembali ke *collection tube*. Sebanyak 650 μL Wash buffer (telah ditambahkan etanol 96%) ditambahkan pada FAPG column dan disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik.

Flow-through pada *collection tube* dibuang dan FAPG column ditempatkan kembali ke *collection tube*. Sebanyak 650

μ L Wash buffer ditambahkan kembali pada FAPG column dan disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik. *Flow-through* pada *collection tube* dibuang dan FAPG column ditempatkan kembali ke *collection tube*. Kemudian FAPG column dan *collection tube* disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit untuk mengeringkan kolom matriks. FAPG column kering dipindahkan ke *elution tube* atau microtube 1,5 mL baru.

e) Tahap *DNA Elution*

Sebanyak 50 μ L *elution buffer* yang telah dipanaskan ditambahkan ke bagian tengah kolom matriks FAPG column. *Microtube* ditegakkan selama 1 menit di suhu ruang dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit untuk mengelusikan DNA murni.

3. Amplifikasi *DNA Barcode psbA-trnH*

Sampel DNA jambu semarang diamplifikasi dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan *DNA barcode psbA-trnH*. Urutan primer *trnH* (5' > 3') yaitu CGCGCATGGTGGATTCACAATCC (Tate dan Simpson, 2003) dan *psbA* (5' > 3') yaitu GTTATGCATGAACGTAATGCTC (Sang et al., 1997). Primer disintesis oleh *Integrated DNA Technologies*, Singapore. Komposisi PCR dilakukan dalam

volume 50 μL yang terdiri dari 25 μL MyTaq HS Red Mix, 13 μL ddH₂O steril, 2 μL dari masing-masing primer (10 pmol/ μM) dan 8 μL DNA template.

Kondisi amplifikasi pada program PCR diawali dengan tahap pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan proses denaturasi *DNA-template* pada suhu 94°C selama 1 menit. Kemudian dilanjutkan dengan proses *annealing* selama 30 detik pada suhu 54°C. Proses polimerisasi DNA atau *extention* dilakukan pada suhu 72°C selama 40 detik dan proses polimerisasi DNA akhir atau *final-extension* dilakukan pada suhu 72°C selama 10 menit. Siklus amplifikasi ini dilakukan sebanyak 35 kali (Costion *et al.*, 2011). Sampel yang berhasil di amplifikasi merupakan sampel yang dilanjutkan ke tahap sekuensing.

4. Elektroforesis

Hasil isolasi DNA dan hasil PCR di elektroforesis menggunakan gel agarose konsentrasi 1%. Sebanyak 0,6 gram serbuk agarose ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 100 ml. Sebanyak 60 ml *TBE buffer* (yang telah ditambahkan agarose) ditambahkan kedalam Erlenmeyer dan dihomogenkan. Erlenmeyer ditutup dengan alumunium foil yang telah diberi lubang dan

kemudian dipanaskan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 10 menit hingga *agarose* benar-benar larut yang ditandai dengan gelembung yang muncul.

Cetakan agar disiapkan dengan menempatkan sisir yang sesuai pada baki gel untuk membuat sumur. Sebanyak 1 μL Gel Red ditambahkan kedalam agar sesegera mungkin dan dihomogenkan. *Agarose* cair dituang ke dalam cetakan dan didinginkan di suhu ruang selama 30 menit. Sisir dilepas dan gel ditempatkan kedalam tangki elektroforesis. Kemudian *TBE chamber* dituang ke dalam tangki sampai permukaan gel tertutup atau terendam.

DNA Ladder, Sampel hasil PCR, dan *loading dye* disiapkan untuk dimasukkan kedalam sumuran. Sebanyak 3 μL DNA Ladder dimasukkan kedalam sumuran pertama. Sebanyak 1 μL *loading dye* diambil dan dicampurkan kedalam sampel sebanyak 5 μL . Kemudian satu persatu sampel DNA dimasukkan ke dalam sumuran gel dengan hati-hati. Setelah itu, tangki elektroforesis ditutup dan dinyalakan catu daya. Tegangan elektroforesis dan lama operasi elektroforesis diatur terlebih dahulu.

Tegangan elektroforesis yang digunakan yaitu 100 V dan lama waktu yang digunakan yaitu 30 menit. Kemudian tombol *start* ditekan untuk memulai *running* sampai pewarna

berpindah ke jarak yang sesuai. Setelah itu, gel diangkat dan ditiriskan dari *TBE chamber*. Gel diletakkan pada *UV tray* dan dimasukkan kedalam *gel doc* untuk divisualisasikan. Selanjutnya sekuensing dilakukan di 1ST BASE (Malaysia) menggunakan metode *DNA sequencing* atau *Capillary Electrophoresis*.

5. Analisis Data

Data hasil sekuensing dianalisis dengan menggunakan aplikasi BIOEDIT dan MEGA11 dalam format file AB1 (Kumar *et al.*, 2016). Proses sekuensing menghasilkan grafik elektroforegram (grafik fragmen DNA) yang berbentuk *peak*. Setiap *peak* direpresentasikan dengan empat warna yang berbeda yaitu warna hijau untuk adenin (A), warna merah untuk timin (T), warna hitam untuk guanin (G), dan warna biru untuk sitosin (C). Masing-masing sampel diperoleh sekuen *forward* dan *reverse* karena proses sekuensing dilakukan dalam dua arah. Hasil sekuensing dirapikan dengan metode *contig* yaitu proses penggabungan dua sekuen *forward* dan *reverse* menjadi satu set sekuen DNA.

Setelah set sekuen DNA diperoleh, selanjutnya dilakukan analisis karakteristik sekuen terhadap komposisi nukleotida pada sampel jambu semarang kultivar Madu Thailand dan

Madu Deli Hijau menggunakan model *Nucleotide Composition* pada aplikasi MEGA11. Set sekuen DNA kedua sampel kemudian di-*alignment* atau disejajarkan dengan sekuen yang terdapat pada *GenBank (NCBI)* untuk diidentifikasi secara filogenetik menggunakan metode BLASTn.

Metode *Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn)* digunakan untuk analisis berdasarkan algoritma *alignment* atau penyejajaran pada sekuen nukleotida yang terdapat pada *database*. Sebanyak 12 sekuen dari 100 spesies dipilih berdasarkan nilai *percent identity* dan *query cover* yang paling tinggi (mendekati nilai 100%) untuk dilakukan *alignment* menggunakan program ClustalW dan dianalisis. Sekuen hasil *alignment* kemudian digunakan untuk rekrontuksi pohon filogenetik menggunakan metode statistik *neighbor joining* dengan algoritma Tamura-3 parameter dan nilai *bootstrap replication* 1000x.

Sekuen *alignment* selanjutnya dianalisis untuk melihat jarak genetik antara sekuen sampel dengan sekuen pembanding. Hasil penyejajaran sekuen dalam bentuk *meg.file* kemudian diperhitungan kemiripan jarak genetiknya antara jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dengan spesies lain pada satu genus yang sama yaitu *Syzygium*. Analisis variasi genetik kemudian dianalisis

menggunakan file meg pada aplikasi MEGA11. Hasil analisis memperlihatkan daerah yang beragam (*variable*) dan kekal (*conserved*) pada sekuen sampel yang dibandingkan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil

1. Parameter Lingkungan Lahan Budidaya Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) di Kab. Demak

Jambu semarang yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak. Dalam satu lahan budidaya, terdapat beberapa jenis kultivar jambu semarang. Parameter lingkungan di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak disajikan pada Tabel 4.1.

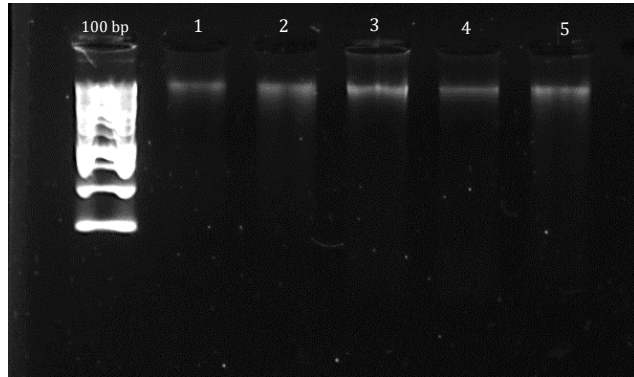
Tabel 4.1 Parameter Lingkungan di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak

Jenis Parameter Lingkungan	Nilai Rata-Rata ± Standar Deviasi
pH Tanah	7 ± 0,00
Suhu Tanah (°C)	27,67 ± 1,15
Intensitas Cahaya (Cd)	449,33 ± 29,14
Kelembaban Udara (%)	66 ± 1,00
Suhu Udara (°C)	36,06 ± 2,96
Ketinggian (mdpl)	81 ± 2,64

Berdasarkan parameter lingkungan di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak, lokasi lahan budidaya termasuk ke dalam wilayah dataran rendah. Derajat keasaman tanah pada lahan budidaya netral dan suhu tanah yang berhasil diukur cukup tinggi karena intensitas cahaya yang masuk juga tinggi. Suhu udara dan kelembaban udara pada lahan lokasi budidaya juga cukup tinggi. Hal tersebut dikarenakan parameter lingkungan diukur pada siang hari sehingga kelembaban udara cenderung lebih tinggi.

2. Isolasi DNA Genom Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) di Kab. Demak

Berdasarkan Tabel 3.1 terdapat lima kultivar jambu semarang yang ditemukan di lahan budidaya jambu semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak, meliputi jambu semarang kultivar Citra (CG3), jambu semarang kultivar Delima (DG3), jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau (MG3), jambu semarang kultivar Madu Thailand (MT3), dan jambu semarang kultivar Madu Merah (MM). Kelima kultivar jambu semarang tersebut berhasil diisolasi DNA genomnya. Hasil visualisasi isolasi DNA genom jambu semarang dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil visualisasi isolasi DNA genom kelima kultivar jambu semarang; (1) CG3; (2) DG3; (3) MM; (4) MG3; (5) MT3

Berdasarkan hasil visualisasi isolasi DNA genom jambu semarang pada kelima kultivar jambu semarang yang dapat dilihat pada Gambar 4.1 dapat diketahui bahwa kelima kultivar memiliki pita DNA genom yang cukup baik. Pada sampel CG3 dan MM, pita DNA genom cukup tebal dan tampak adanya sedikit *smear* (pengotor) pada pita DNA. Sedangkan pada sampel DG3 memiliki pita DNA yang cukup tebal dan *smear* yang cukup banyak dibandingkan keempat sampel lainnya.

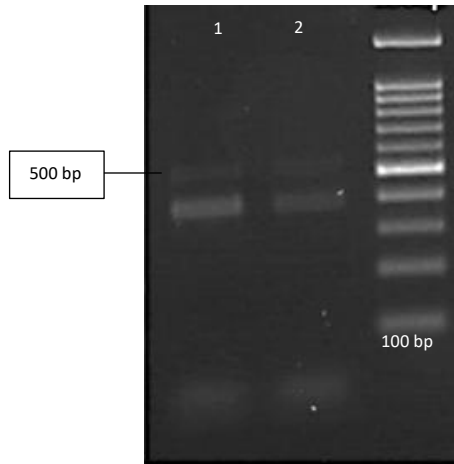
Sampel MT3 juga memiliki pita yang cukup tebal dan tampak adanya sedikit *smear*. Sedangkan pada sampel MG3 memiliki pita yang lebih tipis dibandingkan keempat sampel lainnya dan tidak tampak adanya *smear*. Berdasarkan hasil penelitian isolasi DNA genom, dapat diketahui bahwa pita

DNA genom yang baik memiliki pita DNA yang tebal, bersih, dan tidak ada *smear*. Hasil isolasi DNA genom yang baik akan mempengaruhi keberhasilan proses amplifikasi.

3. Amplifikasi *DNA Barcode psbA-trnH* Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak

Kelima sampel hasil isolasi DNA dilanjutkan ke tahap amplifikasi DNA, namun hanya dua sampel yang berhasil di amplifikasi yaitu sampel MT3 dan MG3. Hasil visualisasi amplifikasi *DNA barcode psbA-trnH* jambu semarang pada kedua sampel yang tersaji pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa kedua sampel teramplifikasi dengan baik. Akan tetapi, sampel MT3 dan MG3 menunjukkan adanya pita ganda atau *multiband* yang memisah dengan baik.

Dalam proses sekuensing, hanya satu pita saja yang merepresentasikan ampikon primer *psbA-trnH* yang dipilih untuk di sekuensing yaitu pita dengan panjang basa 500 bp sesuai dengan primer *psbA-trnH* yang digunakan (Tate & Simpson, 2003). Selain itu, pada kedua sampel juga tampak adanya *excess primer* (primer berlebih akibat tidak terikat pada bagian *DNA template* yang diinginkan atau nonspesifik).



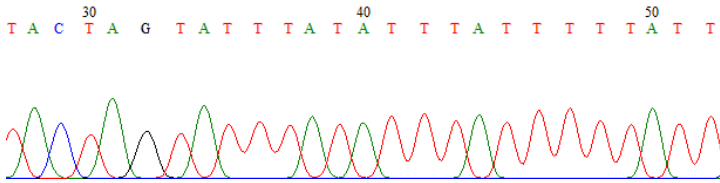
Gambar 4.2 Hasil visualisasi amplikon DNA jambu semarang menggunakan *DNA barcode psbA-trnH*; (1) Kultivar Madu Thailand (MT3); (2) Kultivar Madu Deli Hijau (MG3)

4. Sekuens *DNA Barcode psbA-trnH* Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak

Proses sekuensing dilakukan dari dua arah yaitu *forward* (5' → 3') dan *reverse* (3' → 5'). Hasil sekuensing menghasilkan data berupa elektroforegram atau grafik fragmen DNA dalam format AB1 file yang tersaji pada Gambar lampiran 1. Berdasarkan hasil sekuensing, sampel MT3 dan MG3 berhasil disekuensing dari dua arah, baik dari arah *forward* maupun *reverse*.

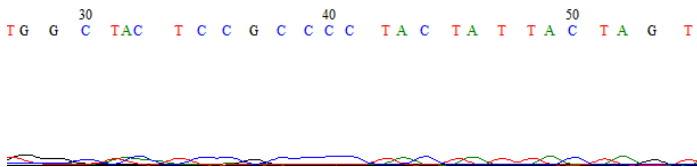
Data elektroforegram terdiri atas *peak* disertai warna garis yang menunjukkan jenis nukleotida. Berdasarkan grafik elektroforegram pada kedua sampel, sampel MT3 memiliki grafik yang lebih baik dibandingkan sampel MG3 pada kedua arah. Grafik elektroforegram pada sampel MT3 memiliki *peak* yang stabil dilihat dari tinggi *peak* yang sama walaupun masih terdapat beberapa *noise*.

Bagian *reverse* dari sampel MG3 memiliki hasil yang baik dengan *peak* yang lebih stabil dibandingkan bagian *forward* (Gambar 4.4). Pada bagian *forward* sampel MG3 memiliki hasil yang kurang baik dikarenakan grafik elektroforegram tidak dapat terbaca dengan baik karena sinyal yang lemah. Selanjutnya hasil sekuensing dilakukan *contig* yaitu proses penggabungan antara sekuen *forward* dan *reverse* untuk menghasilkan satu set sekuen DNA. Berdasarkan hasil analisis pada grafik elektroforegram, dapat diketahui bahwa grafik yang baik (Gambar 4.3) akan menunjukkan satu puncak atau *peak* dengan jarak yang sama yang mewakili satu warna dan tidak terdapat banyak *noise* pada *baseline*.



Gambar 4.3 Hasil sekuensing yang baik pada arah *forward* sampel MT3; garis hijau untuk adenin (A); merah untuk timin (T); hitam untuk guanin (G); dan biru untuk sitosin (C)

Berdasarkan hasil analisis *DNA Barcode Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau diperoleh hasil *contig* yaitu satu set sekuen DNA yang disajikan pada Lampiran 3. Hasil *contig* kultivar Madu Thailand memiliki panjang sekuen 535 bp, sedangkan kultivar Madu Deli Hijau memiliki panjang sekuen 492 bp. Sampel MG3 memiliki panjang sekuen yang lebih pendek dibandingkan sampel MT3 dikarenakan grafik elektroforegram hasil sekuensing pada bagian *forward* kurang baik (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Hasil sekuensing yang kurang baik pada arah *forward* sampel MG3; garis hijau untuk adenin (A); merah untuk timin (T); hitam untuk guanin (G); dan biru untuk sitosin (C)

Komposisi nukleotida pada jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau mempunyai komposisi nukleotida yang berbeda. Akan tetapi, keduanya mempunyai komposisi Adenin (A) dan Timin (T) yang lebih banyak dibandingkan komposisi Sitosin (C) dan Guanin (G). Komposisi nukleotida sampel MT3 dan MG3 disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi Nukleotida Jambu Semarang Kultivar Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3)

No.	Sampel	Komposisi Nukleotida (%)				Panjang Sekuen (bp)
		A	T	G	C	
1.	MT3	33,5	16,3	37,6	12,7	535
2.	MG3	33,7	16,7	38,0	11,6	492

Sekuen sampel MT3 dan MG3 kemudian dilakukan proses BLAST untuk menyejajarkan dan membandingkan urutan kueri DNA sampel dengan urutan kueri DNA yang terdapat pada *database* NCBI. Pencarian sekuen pembanding *DNA Barcode psbA-trnH S. samarangense* kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak menggunakan metode *Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTn). BLASTn digunakan untuk analisis berdasarkan algoritma *alignment* atau penyejajaran pada

sekuen nukleotida yang terdapat pada *database* NCBI. Hasil BLASTn disajikan pada Tabel lampiran 1.

Sebanyak 12 sekuen dari 100 spesies dipilih untuk dilakukan *alignment* dan rekonstruksi pohon filogenetik. Spesies yang digunakan sebagai sekuen pembanding dipilih berdasarkan nilai *expectation value* (*E. value*), *percent identity* dan *query cover* paling tinggi yaitu mendekati 100% yang disajikan pada Tabel 4.3. Hasil *alignment* dengan 12 sekuen pembanding dari *database* NCBI disajikan pada Gambar lampiran 2.

Tabel 4.3 Daftar Sekuen Pembanding Berdasarkan Hasil BLASTn di NCBI

Nama Spesies	Nama Aksesori	Percent Identity	E. value	Query Cover
<i>Syzygium samarangense</i>	NC 060627.1	99.80%	0.0	99%
<i>Syzygium jambos</i>	NC 052728.1	99.31%	9e-145	96%
<i>Syzygium grijsii</i>	NC 065156.1	99.31%	9e-145	96%
<i>Syzygium forestii</i>	NC 044106.1	99.31%	9e-145	96%
<i>Syzygium cumini</i>	NC 053327.1	99.28%	4e-138	98%

Nama Spesies	Nama Aksesori	Percent Identity	E. value	Query Cover
<i>Syzygium rehderianum</i>	NC 065261.1	93.81%	4e-113	99%
<i>Syzygium album</i>	NC 060587.1	96.22%	4e-128	99%
<i>Syzygium odoratum</i>	NC 059005.1	96.22%	4e-128	99%
<i>Syzygium acuminatissimum</i>	NC 053640.1	96.22%	4e-128	99%
<i>Syzygium nervosum</i>	NC 053907.1	96.62%	2e-132	99%
<i>Syzygium malaccense</i>	NC 052867.1	99.31%	9e-145	99%
<i>Syzygium aromaticum</i>	MN 746306.1	99,66%	2e-146	99%

Berdasarkan analisis jarak genetik antara sekuen sampel dengan sekuen pembandingan diperoleh nilai matriks jarak genetik yang disajikan pada Tabel 4.4. Jarak genetik merupakan metode untuk menentukan perhitungan kemiripan genetik antara jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dengan spesies lain pada satu genus yang sama yaitu *Syzygium*.

Hasil perhitungan nilai matriks jarak genetik memiliki kemiripan pada jarak genetik antara 0,000-0,117. Nilai matriks jarak genetik tertinggi yaitu 0,117 ditunjukkan oleh jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau dengan *S. forestii* dan jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau dengan *S. cumini*. Spesies tersebut diasumsikan sebagai jenis yang berkerabat paling jauh.

Sedangkan nilai matriks jarak genetik terendah ditunjukkan oleh jambu semarang kultivar Madu Thailand dengan jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau, *S. odoratum* dengan *S. acuminatissimum*, dan *S. forestii* dengan *S. cumini* (0,000). Spesies tersebut diasumsikan sebagai jenis yang berkerabat paling dekat. Nilai matriks jarak genetik antara kultivar Madu Thailand dengan *S. samarangense* dari *NCBI* dan kultivar Madu Deli Hijau dengan *S. samarangense* dari *NCBI* yaitu 0,002. Sehingga kedua spesies tersebut juga dapat diasumsikan sebagai jenis yang berkerabat dekat.

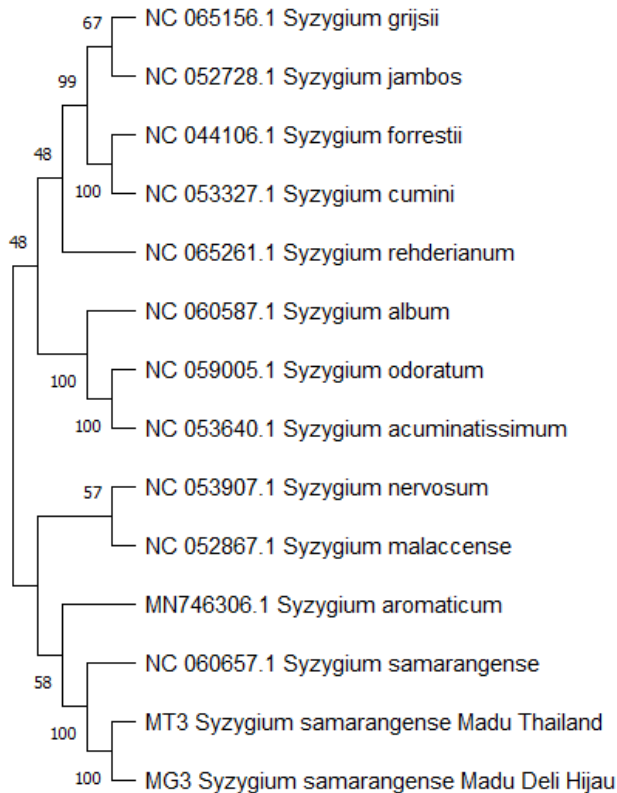
Hasil rekonstruksi pohon filogenetik memperkuat hasil analisis jarak genetik bahwa kultivar Madu Thailand membentuk satu klad dengan kultivar Madu Deli Hijau yang dapat dilihat pada Gambar 4.5. Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik tersebut, 14 jenis *Syzygium* membentuk kelompok dalam masing-masing klad

berdasarkan kemiripan sekuen nukleotida yang bersifat monofiletik.

Nilai *bootstrap* pada sampel MT3 dan MG3 yaitu 100, artinya kedua spesies tersebut memiliki tingkat kepercayaan topologi hasil rekonstruksi pohon yang tinggi. Pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel MT3 dan MG3 berada dalam satu klad yang sama. Pada klad utama antara *S. samarangense* dengan MT3 dan MG3 memiliki nilai *bootstrap* 100 (Gambar 4.5).

Tabel 4.4 Jarak genetik Sampel MT3 dan MG3 dengan spesies *Syzygium* lain dari NCBI

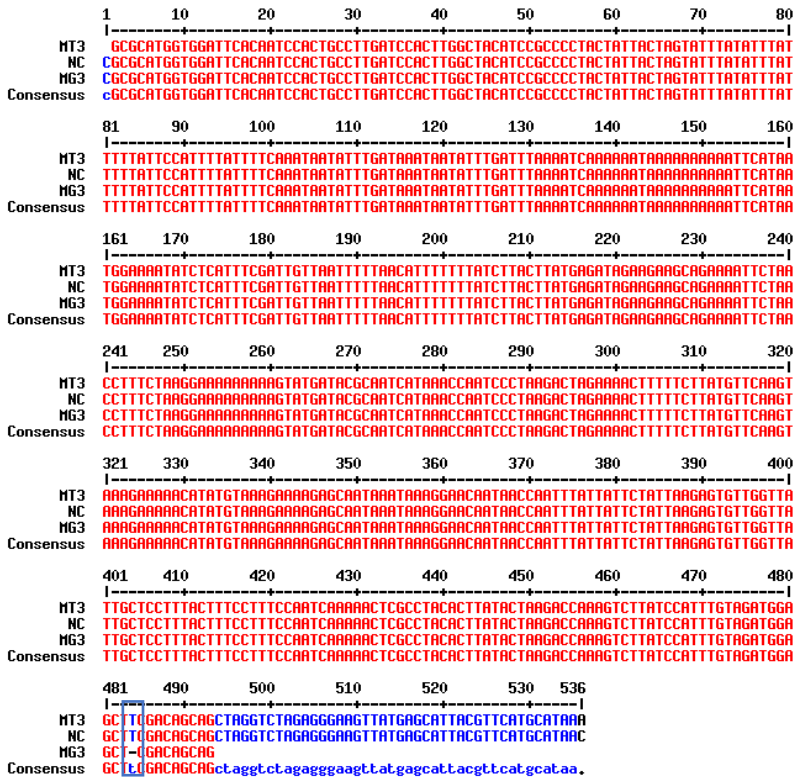
	Sampe l MT3	Sampe l MG3	<i>S.</i> <i>samara</i> <i>ngense</i>	<i>S.</i> <i>album</i>	<i>S. odo</i> <i>ratum</i>	<i>S.</i> <i>acumin</i> <i>atissimu</i> <i>m</i>	<i>S.</i> <i>nervo</i> <i>sum</i>	<i>S.</i> <i>mala</i> <i>ccense</i>	<i>S.</i> <i>jambo</i> <i>s</i>	<i>S. grijsii</i>	<i>S.</i> <i>rehde</i> <i>rianu</i> <i>m</i>	<i>S.</i> <i>aroma</i> <i>-ticum</i>	<i>S.</i> <i>forres</i> <i>tii</i>	<i>S.</i> <i>cumini</i>
Sampel MT3														
Sampel MG3	0,000													
<i>S. samara</i> <i>ngense</i>	0,002	0,002												
<i>S. album</i>	0,050	0,055	0,037											
<i>S. odoratum</i>	0,047	0,052	0,036	0,001										
<i>S. acuminatissimum</i>	0,047	0,052	0,036	0,001	0,000									
<i>S. nervosum</i>	0,024	0,026	0,019	0,035	0,033	0,033								
<i>S. malaccense</i>	0,022	0,024	0,016	0,030	0,030	0,030	0,014							
<i>S. jambos</i>	0,027	0,029	0,019	0,026	0,025	0,025	0,017	0,011						
<i>S. grijsii</i>	0,029	0,032	0,020	0,026	0,025	0,025	0,017	0,011	0,001					
<i>S. rehderianum</i>	0,030	0,032	0,020	0,032	0,031	0,031	0,026	0,026	0,023	0,023				
<i>S. aromaticum</i>	0,033	0,036	0,025	0,043	0,041	0,041	0,026	0,026	0,029	0,029	0,025			
<i>S. forrestii</i>	0,107	0,117	0,078	0,084	0,084	0,084	0,071	0,067	0,044	0,044	0,068	0,078		
<i>S. cumini</i>	0,107	0,117	0,078	0,084	0,084	0,084	0,071	0,067	0,044	0,044	0,068	0,078	0,000	



Gambar 4.5 Rekonstruksi pohon filogenetik *Syzygium samarangense* kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berdasarkan metode *neighbor joining*.

Hasil penyejajaran kedua sampel jambu semarang antara kultivar Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3) menggunakan *DNA barcode psbA-trnH* disajikan pada Gambar 4.6. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua sampel tidak menunjukkan banyak variasi intraspesies.

Variasi nukleotida sampel MT3 dan sampel MG3 hanya terdapat pada titik 484 pada gen *psbA-trnH*. Pada titik tersebut, ditemukan adanya delesi atau hilangnya nukleotida T pada sekuens sampel MG3.



Gambar 4.6 Hasil penyejajaran sekuens sampel jambu semarang kultivar Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3) dengan *S. samarangense* aksesori NC_060627.1 menggunakan MultAlin

B. Pembahasan

1. Parameter Lingkungan Lahan Budidaya Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) di Kab. Demak

Lokasi penelitian dilaksanakan di lahan budidaya jambu semarang yang terdapat di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak. Parameter lingkungan diukur berdasarkan tiga titik yang berbeda dalam satu wilayah budidaya. Berdasarkan pengukuran ketinggian lokasi lahan budidaya jambu semarang, lokasi lahan budidaya ini termasuk ke dalam wilayah dataran rendah. Sesuai dengan teori oleh Istiawan & Kastono (2019), yang menyatakan bahwa wilayah dataran rendah berada dibawah 400 mdpl.

Menurut Daulay (2022), hasil pengukuran parameter lingkungan pada lokasi lahan budidaya jambu semarang di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, Kab. Demak sesuai dengan teori mengenai syarat tumbuh jambu semarang yaitu:

- a. Ketinggian tempat 0 - 500 mdpl
- b. pH tanah antara 5,5 - 7,5
- c. Curah hujan berjumlah sekitar 500 - 3.000 mm/tahun
- d. Intensitas cahaya antara 40 - 80 %
- e. Suhu udara berkisar antara 18 - 28 °C
- f. Kelembaban udara antara 50 - 80%

Menurut Fiqa *et al.*, (2021) pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang optimum dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuhnya. Sehingga dapat dikatakan bahwa kondisi lingkungan sangat berpengaruh terhadap produktivitas tanaman budidaya jambu semarang. Suhu udara pada lokasi lahan budidaya jambu semarang cukup tinggi dibandingkan dengan syarat tumbuh yang disarankan oleh Daulay (2022) untuk pertumbuhan tanaman budidaya jambu semarang yang berkisar antara 18-28°C.

Intensitas cahaya yang cukup tinggi pada lokasi lahan budidaya juga dapat mempengaruhi produktivitas tanaman budidaya jambu semarang karena cahaya yang mencapai dasar tanah dapat memicu pertumbuhan tanaman sehingga sangat dibutuhkan oleh tumbuhan untuk bertahan hidup (Fiqa *et al.*, 2021). Selain itu, pengaruh yang cukup signifikan terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman dipengaruhi oleh pH tanah (Fiqa *et al.*, 2021). Menurut Karamina *et al.* (2018) tanaman yang mampu beradaptasi pada pH tanah yang bervariasi merupakan tanaman yang toleran. Hasil pengukuran pH tanah pada tiga titik sampel lokasi memiliki nilai yang sama yaitu bernilai netral sehingga berpengaruh positif terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman.

2. Isolasi DNA Genom Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) di Kab. Demak

Terdapat lima kultivar jambu semarang yang ditemukan dari lahan budidaya di Ds. Boyolali, Kec. Gajah, dan Kab. Demak untuk diisolasi. Setiap kultivar diambil organ daunnya dengan ciri daun yang sudah dewasa dan merupakan daun yang sehat. Hal ini dikarenakan pada daun tua, kandungan polifenol dan polisakarida terutama pada tumbuhan suku Myrtaceae tinggi (Nurkhairani *et al.*, 2017).

Syzygium samarangense merupakan spesies tumbuhan yang termasuk ke dalam suku Myrtaceae. Nurkhairani *et al.* (2017) menyatakan bahwa secara umum tumbuhan yang termasuk ke dalam suku Myrtaceae memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, resin, tannin, dan minyak atsiri polifenol. Kandungan polifenol yang tinggi dapat mengganggu proses isolasi DNA pada daun karena senyawa ini dapat mengikat DNA (Nurkhairani *et al.*, 2017).

DNA genom jambu semarang kultivar Delima, jambu Madu Deli Hijau, Madu Thailand, dan Madu Merah berhasil diisolasi. Keberhasilan isolasi DNA dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas jaringan tanaman yang digunakan dan teknik penghancuran pada jaringan (Nugroho *et al.*, 2019). Hasil isolasi DNA genom jambu semarang diuji secara

kualitatif menggunakan elektroforesis yang tersaji pada Gambar 4.1. Ketebalan pita DNA yang terbentuk, mengindikasikan tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA yang terdapat pada suatu sampel (Alfaruqi *et al.*, 2021).

Semakin tebal pita DNA maka semakin tinggi konsentrasi DNA yang diperoleh. Terbentuknya *smear* dapat dipengaruhi oleh beberapa hal. *Smear* dapat disebabkan karena masih terdapatnya kontaminan seperti protein atau terbawanya sisa larutan pada proses isolasi (Iqbal *et al.*, 2016). Hasil degradasi atau kerusakan molekul DNA yang memiliki bobot bervariasi juga mempengaruhi terbentuknya *smear*. Kerusakan molekul dapat diakibatkan oleh terpotongnya molekul DNA saat ekstraksi sehingga DNA tidak utuh dan menjadi residu dalam bentuk *smear* (Uslan & Pharmawati, 2015).

3. Amplifikasi DNA Barcode *psbA-trnH* Jambu Semarang *Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak

Visualisasi hasil amplifikasi sampel Madu Thailand (MT3) dan Madu Deli Hijau (MG3) menunjukkan bahwa sampel kurang teramplifikasi dengan baik (Gambar 4.2). Sampel DNA yang teramplifikasi dengan baik dapat dilihat

dari amplicon yang terbentuk. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan amplifikasi fragmen DNA, yaitu DNA template, primer, $MgCl_2$, *buffer* PCR, waktu, suhu, dan jumlah siklus yang digunakan (Ludyasari *et al.*, 2016). Terbentuknya *multiband* dapat disebabkan oleh suhu yang digunakan pada proses *annealing* belum optimal sehingga proses penempelan primer pada untai DNA belum spesifik (Ludyasari *et al.*, 2016).

Suhu optimum diperlukan untuk proses penempelan primer pada utas DNA. Penempelan primer bergantung pada terbukanya utas DNA pada proses denaturasi. Suhu yang terlalu rendah pada proses denaturasi dapat menyebabkan utas DNA yang belum terbuka sehingga diperlukan suhu yang optimal. Suhu optimal juga diperlukan pada proses *annealing* karena suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menyebabkan primer tidak menempel atau menempel pada sisi lain yang bukan sisi homolognya. Hal tersebut menyebabkan teramplifikasinya daerah-daerah yang lain sehingga menghasilkan *multiband* (Fahlevi *et al.*, 2017).

Selain itu, munculnya *multiband* dapat disebabkan karena wilayah *psbA-trnH* pada kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau bervariasi sehingga *primer psbA-trnH* yang digunakan tidak hanya menempel dan mengamplifikasi

pada satu wilayah saja (Alfaruqi *et al.*, 2021). Pita amplikon yang tipis dapat disebabkan oleh konsentrasi DNA yang digunakan sebagai *template* sangat sedikit. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil isolasi DNA pada sampel MG3 dimana pita DNA sangat tipis jika dibandingkan dengan sampel MT3. Salah satu penyebab konsentrasi DNA *template* yang sedikit adalah DNA terdegradasi pada saat ekstraksi sehingga jumlah salinan DNA pada saat amplifikasi berkurang dan menyebabkan amplikon yang dihasilkan sedikit. Alfaruqi *et al.* (2021) menyatakan bahwa DNA *template* yang sedikit akan mempengaruhi proses visualisasi sehingga menyebabkan pita DNA tidak terlihat dengan jelas.

4. Karakteristik Sekuens DNA Barcode *psbA-trnH* Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak

Grafik elektroforegram menjadi indikator baik atau tidaknya suatu sekuen. *Noise* dapat disebabkan oleh adanya *multiple template* sekuen akibat pengaruh primer yang digunakan (Naipospos *et al.* 2014). Terbentuknya *secondary structure* pada sekuen *forward* sampel MG3 menyebabkan berbagai anomali yang mengakibatkan pemanjangan rantai

yang tidak efisien sehingga sekuen nukleotida sulit dibaca berdasarkan grafik elektroforegramnya. Terminasi dini atau penurunan tajam dari sinyal pengurutan selama proses pengurutan (Anonim, 2023).

Persentase komposisi nukleotida (Tabel 4.2) pada sekuen hasil *contig* sampel MT3 dan MG3 sesuai dengan komposisi sekuen *psbA-trnH* yang banyak mengandung nukleotida A yang tinggi (Degtjareva *et al.*, 2012). Parameter identifikasi yang diperhatikan dalam analisis BLASTn yaitu *percent identity*, *expectation value*, dan *query cover*. *Percent identity* menunjukkan persentase kemiripan tertinggi dari suatu sekuen dengan subyek sekuen yang sama.

Nilai *query cover* menunjukkan persentase nukleotida yang sama dengan sekuen yang ada pada *GenBank*. Sedangkan *expectation value* menunjukkan jumlah perbedaan alignment dengan skor yang sesuai dan diharapkan terdapat dalam *GenBank*. Semakin rendah nilai *e. value*, maka semakin rendah perbedaannya (Isda & Sofiyanti, 2019). Nilai *e. value* dapat bernilai signifikan jika mencapai angka <0.05 (Frederick *et al.* 2003). Artinya, jika nilai dugaan bernilai nol (0) maka persejajaran sekuen sangat signifikan.

Sekuen MT3 dan MG3 kemudian disejajarkan menggunakan program ClustalW pada aplikasi MEGA11

seperti yang tersaji pada Gambar lampiran 2. Program ini biasa digunakan untuk membuat *multiple sequence alignment*. Hasil penyejajaran menunjukkan tingkat homologi yang tinggi diantara sampel yang diamati. Pada hasil penyejajaran sampel MT3 dan MG3 dengan 12 sekuen pembanding muncul banyak *gap* atau celah (ditandai dengan garis putus-putus). *Gap* menunjukkan terjadinya proses mutasi baik insersi maupun delesi.

5. Jarak Genetik Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan DNA Barcode *psbA-trnH*

Analisis jarak genetik antara sampel tumbuhan dengan genus *syzygium* lainnya dihitung menggunakan metode *neighbor joining* yang tersaji pada Tabel 4.4. Hubungan kekerabatan dekat antar dua organisme memiliki nilai jarak genetik yang nilainya sedikit atau kecil (Tallei *et al.* 2016). Seluruh sekuen memiliki nilai jarak genetik <1 artinya rata-rata jarak genetik kecil sehingga berkerabat dekat. Semakin besar nilai jarak genetik antara dua spesies maka semakin jauh jarak antar kedua spesies tersebut (Roslim & Fitriani, 2021).

Jarak genetik antara kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau menandakan bahwa kemungkinan besar jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dengan *S. samarangense* NC_060657.1 berkerabat dekat dan cenderung sebagai spesies yang sama atau merupakan subspecies. Penelitian oleh Irawan *et al.* (2016) pada tumbuhan pakoba dan jambang juga memiliki nilai jarak genetik 0,002 dan mengasumsikan bahwa kedua organisme tersebut berkerabat dekat dan cenderung sebagai spesies yang sama (kultivar atau varietas).

Jarak genetik antara kedua kultivar jambu semarang yaitu kultivar Madu Thailand dengan Madu Deli Hijau diasumsikan sebagai jenis yang berkerabat sangat dekat atau merupakan spesies yang sama. Berdasarkan hasil tersebut, maka kemampuan penanda genetik *psbA-trnH* untuk memisahkan kultivar jambu semarang dalam hal ini sangat rendah. Hasil ini didukung oleh hasil rekonstruksi pohon filogenetik yang dapat dilihat pada Gambar 4.4.

6. Rekonstruksi Pohon Filogenetik Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan *DNA Barcode psbA-trnH*

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode *Neighbor-Joining*, *bootstrap replications* 1000 kali, dan algoritma *Tamura-3 parameter* dengan distribusi gamma 5.00. Metode dan model ini digunakan berdasarkan program model pada aplikasi MEGA11 yang merekomendasikan metode dan model tersebut untuk diaplikasikan dalam merekonstruksi pohon filogenetik seluruh sekuen. Selain itu, rekonstruksi berdasarkan metode *neighbor-joining* didasarkan pada jarak evolusi yang terjadi diantara spesies (Darmawan & Fitmawati, 2020). Berdasarkan distribusi gamma, tingkat substitusi seringkali bervariasi dari satu titik ke titik yang lain dalam suatu urutan. Bentuk distribusi ditentukan oleh nilai yang disebut dengan parameter gamma atau parameter bentuk. Tingkat evolusi juga dimodelkan oleh distribusi gamma (Tamura & Kumar, 1992).

Hasil dari rekonstruksi pohon filogenetik tersebut menunjukkan bahwa seluruh sekuen mengelompok dalam bentuk klad. Nilai *bootstrap* merupakan sebuah nilai untuk

kepercayaan suatu cabang. Semakin kecil nilai *bootstrap* maka semakin rendah tingkat kepercayaan topologi hasil rekonstruksi pohon tersebut (Syahputra *et al.*, 2017). Maka nilai *bootstrap* yang baik dapat dikatakan sebagai nilai yang mendekati 100. Berdasarkan nilai *bootstrap* pada jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau maka peluang terjadinya perubahan susunan pada klad sangat rendah. Oleh karena itu, topologi hasil rekonstruksi pohon filogenetik pada jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau memiliki tingkat kepercayaan yang tinggi.

7. Variasi Genetik Jambu Semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) Kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di Kab. Demak Menggunakan DNA Barcode *psbA-trnH*

Variasi intraspesifik atau variasi diantara kelompok pada jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di wilayah *psbA-trnH* *intergenic spacer* bersifat kekal atau *conserved*. Akan tetapi, variasi interspesifik atau variasi diantara kelompok lainnya (genus *Syzygium*) pada jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau di wilayah *psbA-trnH* bersifat beragam atau *variable* (Gambar lampiran

2.). Variasi intraspesifik yang terjadi disebabkan karena adanya delesi atau hilangnya nukleotida.

Variasi yang terjadi pada situs tersebut disebabkan oleh adanya mutasi (Hasibuan *et al.*, 2017). Mutasi merupakan suatu perubahan materi genetik yang menyebabkan terjadinya keragaman genetik akibat adanya perubahan pada tingkat DNA, kromosom, atau genom (Herison *et al.*, 2008). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Liu Meizi (2012) menemukan delesi di wilayah *intergenic spacer* gen *psbA-trnH* yang selanjutnya digunakan untuk mengautentikasi tanaman rempah dan obat. Uncu (2020) menyatakan bahwa delesi merupakan mutasi struktural pada wilayah *intergenic spacer* gen *psbA-trnH* yang digunakan sebagai alat untuk membedakan taksa. Mutasi struktural merupakan mutasi yang mempengaruhi DNA akibat perubahan kandungan pada nukleotida gen. Delesi merupakan salah satu contoh mutasi struktural akibat hilangnya sebagian DNA (Toha *et al.*, 2015).

Berdasarkan organisasi gen yang disajikan pada Gambar lampiran 3. variasi intraspesifik pada situs 484 berada di wilayah gen *psbA*. Keidentikan suatu spesies dipengaruhi oleh variasi yang kecil dan dapat berpengaruh terhadap susunan asam amino yang mengkodekan protein (Hasibuan *et al.*, 2017). Variasi genetik yang tinggi mempengaruhi

suatu spesies dalam beradaptasi dan akan menghasilkan sifat yang tahan terhadap lingkungan ekstrim (Siregar & Olivia, 2012).

Variasi interspesies berdasarkan hasil *multiple sequence alignment* (Gambar lampiran 2) menunjukkan bahwa keragaman genetik pada jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dengan 12 sekuen *Syzygium* pembanding lebih tinggi dibandingkan dengan keragaman genetik dalam populasi. Berdasarkan hasil tersebut, maka gen *psbA-trnH* merupakan wilayah yang terkonservasi pada jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau sehingga tidak mampu membedakan kedua kultivar tersebut. Akan tetapi, gen *psbA-trnH* dapat membedakan jambu semarang (*S. samarangense*) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dengan genus lain.

C. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan bagi penelitian selanjutnya agar didapatkan hasil penelitian yang lebih baik karena memiliki beberapa keterbatasan antara lain:

1. Kit yang digunakan untuk isolasi kurang baik sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk mengisolasi DNA tumbuhan.
2. Suhu yang digunakan dalam proses amplifikasi belum spesifik ditandai dengan adanya *multiband* pada hasil visualisasi amplifikasi PCR.
3. Sekuen pembandingan dari *database NCBI* tidak sesuai dengan sekuen sampel jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau pada penelitian ini.
4. Lemahnya sinyal pada sekuen sampel jambu semarang kultivar Madu Deli Hijau (MG3) dari arah *forward* menyebabkan peneliti kehilangan data.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan analisis hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Sekuen DNA pada sekuen *psbA-trnH* dari jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berturut-turut memiliki panjang 535 bp dan 492 bp. Komposisi nukleotida Adenin (A) dan Timin (T) pada kedua kultivar lebih banyak dibandingkan komposisi Sitosin (C) dan Guanin (G).
2. Berdasarkan analisis jarak genetik, hubungan kekerabatan antara jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kab. Demak kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau berkerabat sangat dekat atau merupakan spesies yang sama karena memiliki nilai matriks jarak genetik 0,000.
3. *DNA Barcoding* menggunakan *DNA Barcode psbA-trnH* tidak dapat digunakan untuk mengautentikasi kultivar jambu semarang (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry) dari Kab. Demak. Kemampuan *DNA Barcode psbA-trnH* untuk

memisahkan kultivar jambu semarang (*S. samarangense*) dalam hal ini sangat rendah.

B. Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti untuk penelitian selanjutnya, antara lain:

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian sangat terbatas karena KIT yang digunakan kurang baik sehingga penulis menyarankan penggunaan KIT isolasi yang lebih baik seperti KIT TIANGEN sehingga waktu yang dibutuhkan lebih cepat untuk mengisolasi DNA tumbuhan dan hasil isolasi DNA dapat menghasilkan amplikon yang lebih baik.
2. Optimasi pada proses amplifikasi menggunakan suhu yang lebih spesifik untuk digunakan dalam proses amplifikasi terutama pada fase *annealing*.
3. Primer *psbA-trnH* yang digunakan pada sekuen pembandingan dari *database NCBI* diperiksa terlebih dahulu sehingga akan menghasilkan sekuen yang sesuai dengan sekuen sampel jambu semarang yang diteliti.
4. Identifikasi variasi genetik dari jambu semarang kultivar Madu Thailand dan Madu Deli Hijau dianalisis menggunakan kombinasi *DNA barcode*, seperti kombinasi antara ITS dan *psbA-trnH*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2023). *Troubleshooting DNA Sequencing: Evaluarion Sanger DNA Sequencing Chromatogram*. <https://ampliconexpress.com/troubleshooting-dna-sequencing-evaluating-sanger-dna-sequencing-chromatogram-data/>. Diakses pada tanggal 15 Maret 2023 pukul 22.09.
- Anggraheni, Y. G. D., Adi, E. B. M., Wibowo, H., & Mulyaningsih, E. S. (2019). Analisis Keragaman Jambu Air (*Syzygium* sp.) Koleksi Kebun Plasma Nutfah Cibinong Berdasarkan Morfologi dan RAPD. *Biopropal Industri*, 10(2), 95. <https://doi.org/10.36974/jbi.v10i2.5248>
- Az-Zuhaili, Wahbah. (2018). *Tafsir Al-Munir: Aqidah, Syariah, Manhaj*. Cetakan 3. Gema Insani Jakarta.
- Alfaruqi, H. Q. D., Anindita, N. S., & Bimantara, A. (2021). Kajian Molekuler Pada Probiotik Asal Air Susu Ibu Dalam Sintesis Eksopolisakarida (EPS). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 8(1), 114–123. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v8i1.4554>
- Ariyanti, E. E., Irawanto, R., Hapsari, L. I. A., & Mudiana, D. (2012). Distribution of *Syzygium* spp. (Klompok) in Some Areas of Bromo Tengger Semeru National Park, East Java. *Proc Soc Indon Biodiv*, 1(July), 135–142.
- Asif, H., Khan, A., Iqbal, A., Khan, I. A., Heinze, B., & Azim, M. K. (2013). The Chloroplast Genome Sequence of *Syzygium cumini* (L.) and Its Relationship With Other Angiosperms. *Tree Genetics and Genomes*, 9(3), 867–877. <https://doi.org/10.1007/s11295-013-0604-1>
- Badan Pusat Statistik. (2022). *Produksi Buah-Buahan Menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Tanaman di Provinsi Jawa Tengah, 2020 – 2021*. <https://jateng.bps.go.id/statictable/2022/03/15/2540/p-roduksi-buah-buahan-menurut-kabupaten-kota-dan-jenis-tanaman-di-provinsi-jawa-tengah-2020---2021.html>. Diakses pada tanggal 22 September 2022 pukul

12.20.

- Balkanska, R., Stefanova, K., Stoikova-Grigorova, R., & Ignatova, M. (2020). A Preliminary Assessment of trnH-psbA as DNA Barcode For Botanical Identification of Polyfloral Honey Samples and Comparison With rbcL Marker. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(1), 238–242.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., & Leon, C. (2010). Validation of The ITS2 Region As A Novel DNA Barcode For Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Costion, C., Ford, A., Cross, H., Crayn, D., Harrington, M., & Lowe, A. (2011). Plant DNA Barcodes Can Accurately Estimate Species Richness In Poorly Known Floras. *PLoS ONE*, 6(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026841>
- Darmawan, H. Z., & Fitmawati. (2020). Analisis Filogenetik Tiga Kultivar Salak di Daerah Aceh Berdasarkan Penanda *rbcL* Menggunakan Metode *Neighbor Joining*. *Repository University of Riau* University of Riau, 22(6), 552–555.
- Daulay, F. R. (2022). Karakterisasi Morfologi dan Kualitas Buah Lima Genotipe Jambu (*Syzygium* spp.). *Skripsi*, 1.
- Degtjareva, G. V., Logacheva, M. D., Samigullin, T. H., Terentieva, E. I., & Valiejo-Roman, C. M. (2012). Organization of Chloroplast psbA-trnH Intergenic Spacer in Dicotyledonous Angiosperms of The Family Umbelliferae. *Biochemistry (Moscow)*, 77(9), 1056–1064. <https://doi.org/10.1134/S0006297912090131>
- Fahlevi, R., Bakti, D., & Sitepu, S. F. (2017). Karakterisasi Molekuler *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera; Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Metode *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Aflp). *Jurnal Agroekoteknologi*, 5(4), 941–953.
- Fiqa, A. P., Nursafitri, T. H., Fauziah, F., & Masudah, S. (2021).

- Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Beberapa Aksesori *Dioscorea alata* L. Terpilih Koleksi Kebun Raya Purwodadi. *Jurnal Agro*, 8(1), 25–39. <https://doi.org/10.15575/10594>
- Ganie, S. H., Upadhyay, P., Das, S., & Prasad Sharma, M. (2015). Authentication of Medicinal Plants by DNA Markers. *Plant Gene*, 4, 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2015.10.002>
- Hanifa, H. M., & Haryanti, S. (2016). Morfoanatomi Daun Jambu Air (*Syzygium samarangense*) var. Demak Normal dan Terserang Hama Ulat. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 1(1), 24. <https://doi.org/10.14710/baf.1.1.2016.24-29>
- Hariri, M. R., Robiansyah, I., Rinandio, D. S., Dodo, D., Sundari, D. S., Sukmawan, C. H., & Ardi, B. (2022). DNA Barcoding of *Vatica bantamensis*, a Critically Endangered Tree Endemic to Banten, Indonesia. In *THE SECOND INTERNATIONAL CONFERENCE ON GENETIC RESOURCES AND BIOTECHNOLOGY: Harnessing Technology for Conservation and Sustainable Use of Genetic Resources for Food and Agriculture* (Vol. 2462, Issue January). <https://doi.org/10.1063/12.0008934>
- Hasibuan, F. E. B., Mantiri, F. R., & Rumende, R. R. . (2017). Kajian Variasi Sekuens Intraspesies dan Filogenetik Monyet Hitam Sulawesi (*Macaca nigra*) dengan Menggunakan Gen COI. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 59. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15558>
- Herison, C., Rustikawati, Sutjahjo, S. H., & Aisyah, S. I. (2008). Induksi Mutasi Melalui Iradiasi Sinar Gamma terhadap Benih untuk Meningkatkan Keragaman Populasi Dasar Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Akta Agrosia*, 11(1), 57–62.
- Istiawan, N. D., & Kastono, D. (2019). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh terhadap Hasil dan Kualitas Minyak Cengkih (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr di Kecamatan Samigaluh, Kulon Progo. *Vegetatika*, 8(1), 27–41.

- Integrated Taxonomic Information System. (2022). *Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M. Perry. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506170#null. Diakses pada 4 September 2022 pukul 13.22.
- Iqbal, M., Dwi Buwono, I., & Kurniawati, N. (2016). Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, 7(1), 54–65.
- Irawan, P. D., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2016). Analisis Sekuens Dan Filogenetik Beberapa Tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) Di Sulawesi Utara Berdasarkan Gen matK. *Jurnal Ilmiah Sains*, 16(2), 42–50.
- Kaur, S. (2013). DNA Barcoding and Its Applications. *Biotechnology in Horticulture: Methods and Applications*, 3(August), 414. www.ijergs.org
- Kementerian Agama RI. (2023). *Surat Fatir* <https://quran.kemenag.go.id/quran/per-ayat/surah/35?from=28&to=45>. Diakses pada tanggal 10 Desember 2022 pukul 16.57.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2023). Konektifitas *Pulau-Pulau Kecil dan Terluar Melalui Pembangunan Dermaga Apung*. <https://kkp.go.id/djprl/artikel/23283-konektifitas-pulau-pulau-kecil-dan-terluar-melalui-pembangunan-dermaga-apung>. Diakses pada tanggal 16 April 2023 pukul 23.32.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 For Bigger Datasets. *MBE Advance Access*, 34(4), 281–294. <https://doi.org/10.2166/nh.2003.0008>
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198.

- <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- Lal, N. A., Prasad, S., & Farik, M. (2016). A Review Of Authentication Methods. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 5(11), 246–249.
- Liu Meizi. (2012). Authentication of *Illicium verum* using a DNA barcode psbA-trnH. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(16), 3156–3161. <https://doi.org/10.5897/jmpr11.1562>
- Ludyasari, A., Susilowati, R., & Abidin, H. M. (2016). Pengaruh Suhu Annealing Pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah. *Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim*, 1(12), 1–10.
- Loera-Sánchez, M., Studer, B., & Kölliker, R. (2020). DNA Barcode trnH-psbA Is A Promising Candidate For Efficient Identification of Forage Legumes and Grasses. *BMC Research Notes*, 13(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-4897-5>
- Mudiana, D. (2016). *Syzygium* diversity in Gunung Baung, East Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 17(2), 733–740. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d170248>
- Nurkhairani, P., Roslim, D. I., & Herman. (2017). Optimasi Isolasi DNA Tumbuhan Durik-durik dari Danau Paparan Banjir Kajuik di Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau. *Jurnal Riau Biologia*, 2(1), 31–36. <http://jurnalunri.org/ojs/index.php/JRB>
- Nugroho, K., Terryana, R. T., Reflinur, ., & Lestari, P. (2019). Metode Ekstraksi DNA Tanaman Tanpa Presipitasi Etanol Untuk Kegiatan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 6(1), 29. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i1.3082>
- Omelchenko, D. O., Krinitsina, A. A., Kasianov, A. S., Speranskaya, A. S., Chesnokova, O. V., Polevova, S. V., & Severova, E. E. (2022). Assessment of ITS1, ITS2, 5'-ETS, and trnL-F DNA Barcodes for Metabarcoding of Poaceae Pollen. *Diversity*, 14(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/d14030191>

- Pang, X., Liu, C., Shi, L., Liu, R., Liang, D., Li, H., Cherny, S. S., & Chen, S. (2012a). Utility of the trnH-psbA Intergenic Spacer Region and Its Combinations as Plant DNA Barcodes: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 7(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048833>
- Pang, X., Liu, C., Shi, L., Liu, R., Liang, D., Li, H., Cherny, S. S., & Chen, S. (2012b). Utility of The trnH-psbA Intergenic Spacer Region and Its Combinations as Plant DNA Barcodes: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 7(11), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048833>
- Phoolcharoen, W., & Sukrong, S. (2013). Molecular Analysis of Vitex Species Using Candidate DNA Barcoding and PCR-RFLP of The matK Gene For Authentication of *Vitex glabrata*. *Natural Product Communications*, 8(1), 125–128. <https://doi.org/10.1177/1934578x1300800130>
- Roslim, D. I., Nurkhairani, P., & Herman, E. R. (2016). Identification of Durik-Durik Plant (*Syzygium* sp.) Using The psbA-trnH Intergenic Spacer and ITS Regions. *Transactions of Persatuan Genetik Malaysia*, 3(November), 11–16.
- Roslim, D. I., & Fitriani, A. (2021). Barkoding DNA Pada Tumbuhan Durik-Durik (*Syzygium* sp.) Asal Riau Menggunakan Daerah Gen *ndhF*. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 41. <https://doi.org/10.35799/jbl.11.1.2021.31191>
- Sang, T., Crawford, D. J., & Stuessy, T. F. (1997). Chloroplast DNA Phylogeny, Reticulate Evolution, and Biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, 84(8), 1120–1136. <https://doi.org/10.2307/2446155>
- Salam, Abdul. (1994). *Keanekaragaman Genetik*. Edisi 1, Cetakan 1. Andi Offset Yogyakarta.
- Siregar, U. J., & Olivia, R. D. (2012). Keragaman genetik populasi sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada hutan rakyat di Jawa berdasarkan penanda RAPD. *Silvikultur*

Tropika, 3(2), 1–7.

- Syahputra, B., Bakti, D., Pinem, M. I., & Prasetyo, A. E. (2017). Karakterisasi Molekuler *Elaeodobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera: Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Sekuen DNA Molekuler. *Jurnal Agroekoteknologi*, 5(3), 1–23.
- Štorchová, H., & Olson, M. S. (2007). The Architecture of The Chloroplast psbA-trnH Non-Coding Region In Angiosperms. *Plant Systematics and Evolution*, 268(1–4), 235–256. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0582-6>
- Tamura K & S Kumar. (2002). Evolutionary distance estimation under heterogeneous substitution pattern among lineages. *Molecular Biology and Evolution* 19:1727-1736
- Tate, J. A., & Simpson, B. B. (2003). Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and Diverse Origins of The Polyploid Species. *Systematic Botany*, 28(4), 723–737. <https://doi.org/10.1043/02-64.1>
- Toha, A. H. A., Widodo, N., Hakim, L., & Sumitro, S. B. (2015). Sekilas tentang Mutasi. *Kons. Biod. Raja Ampat* 4, 4(7), 9–12.
- Uncu, A. O. (2020). A trnH-psbA Barcode Genotyping Assay For The Detection of Common Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Adulteration In Almond (*Prunus dulcis* Mill.). *CYTA - Journal of Food*, 18(1), 187–194. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1727961>
- Widodo, P. (2015). *Jambu Semarang & Jambu Air* (B. Lelono (ed.); Issue October 2015). Universitas Jendral Soedirman Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen *Syzygium samarangense* Madu Thailand Hasil Sekuensing

>1st_BASE_4686946_MT3_F

NNNNNNNNGGCTCTCCGCCCTACTATTACTAGTATTTATATTTA
 TTTTTATTCCATTTTATTTTCAAATAATATTTGATAAATAATAT
 TTGATTTAAAATCAAAAAATAAAAAAAAAAATTCATAATGGAAAA
 TATCTCATTTTCGATTGTTAATTTTTAGGATTTTTTTATCTTACTT
 ATGAGATAGAAGAAGCAGAAAATTCTAACCTTTCTAAGGAAAAA
 AAAAGTATGATACGCAATCATAAACCAATCCCTAAGACTAGAAA
 ACTTTTTCTTATGTTCAAGTAAAGAAAAACATATGTAAAGAAAA
 GAGCAATAAATAAAGGAACAATAACCAATTTATTATTCTATTAA
 GAGTGTTGGTTATTGCTCCTTTACTTTCCCTTTCCAATCAAAAAC
 CGCCTACACTTATACTAAGACCAAAGTCTTATCCATTTGTAGATG
 GAGCTTCGACAGCAGCTAGGTCTAGAGGGAAGTTATGAGCATT
 CGTTCATGCATAAAAA

>1st_BASE_4686947_MT3_R

NNNNNNANACTAGCTGCTGTCGAAGCTCCATCTACAAATGGATA
 AGACTTTGGTCTTAGTATAAGTGTAGGCGAGTTTTTGATTGGAA
 AGGAAAGTAAAGGAGCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATA
 AATTGGTTATTGTTCCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTTACATATG
 TTTTTCTTTACTTGAACATAAGAAAAAGTTTTCTAGTCTTAGGG
 ATTGGTTTATGATTGCGTATCATACTTTTTTTTTCTTAGAAAGG
 TTAGAATTTTCTGCTTCTTCTATCTCATAAGTAAGATAAAAAA

TGTTAAAAATTAACAATCGAAATGAGATATTTTCCATTATGAAT
 TTTTTTTTTTATTTTTTGATTTTAAATCAAATATTATTTATCAAAT
 ATTATTTGAAAATAAAATGGAATAAAAATAAATATAAATACTAG
 TAATAGTAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGAT
 TGTGAATCCACCTATGCGCGA

Lampiran 2. Sekuen *Syzygium samarangense* Madu Deli Hijau Hasil Sekuensing

>1st_BASE_4686948_MG3_F

AAGTTTGCTGCTTTCTAGAGTCGTCTTGGCTACTCCGCCCTACT
 ATTACTAGTATTTATATTTATTTTTATTCCATTTTATTTTCAAAT
 AATATTTGATAAATAATATTTGATTTAAAATCAAAAAATAAAAA
 AAAAATTCATAATGAAAAATATCTCATTTCGATTGTTAATTTTT
 AGGATTTTTTTATCTTACTTATGAGATAGAAGAAGCAGAAAATT
 CTAACCTTTCTAAGGAAAAAAAAAAGTATGATACGCAATCATAAA
 CCAATCCCTAAAACTAGAAAACTTTTTCTTATGTTCAAGTAAAGA
 AAAACATATGTAAAGAAAAGAGCAATAAATAAAGGAACAATAAC
 CAATTTATTATTCTATTTAAAAGGGTTGGTTATTGCTCCTTTACTT
 TCCTTTCCAATCAAAAACCTCGCCTACACTTATACTAAAACCAAAG
 TCTTTTCCATTTGTAGATGGAGCTTCG

>1st_BASE_4686949_MG3_R

NNNNACCTANCTGCTGTGCGANCTCCATCTACAAATGGATAAGA
 CTTTGGTCTTAGTATAAGTGTAGGCGAGTTTTTTGATTGGAAAGG
 AAAGTAAAGGAGCAATAACCAACACTCTTAATAGAATAATAAAT

TGGTTATTGTTCCCTTTATTTATTGCTCTTTTCTTTACATATGTTT
 TTCTTTACTTGAACATAAGAAAAAGTTTTCTAGTCTTAGGGATT
 GGTTTATGATTGCGTATCATACTTTTTTTTTTTCCTTAGAAAAGGTTA
 GAATTTTCTGCTTCTTCTATCTCATAAGTAAGATAAAAAAATGT
 TAAAAATTAACAATCGAAATGAGATATTTTCCATTATGAATTTT
 TTTTTTATTTTTTGATTTTAAATCAAATATTATTTATCAAATAT
 TATTTGAAAATAAAATGGAATAAAAAATAAATAATAAATACTAGTA
 ATAATAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTG
 TGAATCCACCATGCGCGAATGTATACTTTATTCTTTGATAGGACT
 TAATGTGTGTNNTCGC

Lampiran 3. Sekuen *Syzygium samarangense* Hasil Contig

>Sekuen *S. samarangense* MT3 Hasil Contig

GCGCATGGTGGATTCACAATCCACTGCCTTGATCCACTTGGCTAC
 ATCCGCCCTACTATTACTAGTATTTATATTTATTTTTATTCAT
 TTTATTTTCAAATAATATTTGATAAATAATATTTGATTTAAAT
 CAAAAATAAAAAAAAAAATTCATAATGGAAAATATCTCATTTCG
 ATTGTTAATTTTTAACATTTTTTTTATCTTACTTATGAGATAGAA
 GAAGCAGAAAATTCTAACCTTCTAAGGAAAAAAAAAAGTATGAT
 ACGCAATCATAACCAATCCCTAAGACTAGAAAACTTTTTCTTAT
 GTTCAAGTAAAGAAAAACATATGTAAAGAAAAGAGCAATAAATA
 AAGGAACAATAACCAATTTATTATTCTATTAAGAGTGTGGTTA
 TTGCTCCTTTACTTTCTTTCCAATCAAAAACTCGCCTACACTTA
 TACTAAGACCAAAGTCTTATCCATTTGTAGATGGAGCTTCGACAG

CAGCTAGGTCTAGAGGGAAGTTATGAGCATTACG TTCATGCATA
AA

>Sekuen *S. Samarangense* MG3 Hasil *Contig*

CGCGCATGGTGGATT CACAATCCACTGCCTTGATCCACTTGGCTA
CATCCGCCCTACTATTACTAGTATTTATATTTATTTTTATTCCA
TTTTATTTTTCAAATAATATTTGATAAATAATATTTGATTTAAAA
TCAAAAAATAAAAAAAAAAATTCATAATGGAAAATATCTCATTT
GATTGTTAATTTTTAACATTTTTTTTATCTTACTTATGAGATAGA
AGAAGCAGAAAATTCTAACCTTTCTAAGGAAAAAAAAAAGTATGA
TACGCAATCATAAACCAATCCCTAAGACTAGAAAACTTTTCTTA
TGTTCAAGTAAAGAAAAACATATGTAAAGAAAAGAGCAATAAAT
AAAGGAACAATAACCAATTTATTATTCTATTAAGAGTGTTGGTT
ATTGCTCCTTTACTTTCCTTTCCAATCAAAAACTCGCCTACACTT
ATACTAAGACCAAAGTCTTATCCATTTGTAGATGGAGCTCGACAG
CAG

TABEL LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Hasil BLASTn di NCBI

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
1.	<i>Syzygium samarangense</i>	3
2.	<i>Syzygium aqueum</i>	3
3.	<i>Syzygium cumini</i>	8
4.	<i>Syzygium aromaticum</i>	12
5.	<i>Syzygium grijsii</i>	2
6.	<i>Syzygium malaccense</i>	4
7.	<i>Syzygium jambos</i>	9
8.	<i>Syzygium foxworthianum</i>	1
9.	<i>Syzygium forrestii</i>	2
10.	<i>Syzygium oleosum</i>	1
11.	<i>Syzygium rowlandii</i>	2
12.	<i>Syzygium nemorale</i>	2
13.	<i>Syzygium buxifolium</i>	5
14.	<i>Syzygium hylophilum</i>	1
15.	<i>Syzygium nervosum</i>	1
16.	<i>Syzygium levinei</i>	3
17.	<i>Syzygium cleverifolium</i>	3
18.	<i>Syzygium odoratum</i>	1
19.	<i>Syzygium acuminatissimum</i>	1
20.	<i>Syzygium cymosum</i>	1
21.	<i>Syzygium australe</i>	1

22.	<i>Syzygium maire</i>	1
23.	<i>Syzygium zeylanicum</i>	1
24.	<i>Syzygium alatum</i>	1
25.	<i>Xantostemon chrysantus</i>	1
26.	<i>Lophostemon confertus</i>	3
27.	<i>Syzygium hancei</i>	3
28.	<i>Syzygium championii</i>	1
29.	<i>Eugenia virens</i>	1
30.	<i>Syzygium rehderianum</i>	5
31.	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	1
32.	<i>Syzygium variolosum</i>	1
33.	<i>Syzygium sandakanense</i>	1
34.	<i>Syzygium longipes</i>	1
35.	<i>Myrcia eriopus</i>	1
36.	<i>Myrcia splendens</i>	1
37.	<i>Myrcia variabilis</i>	1
38.	<i>Myrcia amethystina</i>	1
39.	<i>Lophomyrtus obcordata</i>	1
40.	<i>Myrtus communis</i>	2
41.	<i>Syzygium creaghii</i>	1
42.	<i>Syzygium sp.</i>	4
Total		100

Gambar lampiran 2. Hasil *Multiple Alignment Sequence S. samarangense*

```

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      5      15      25      35      45      55
Sampe1 MT3 -----GCGCAT AGGTGGATTC ACAATCCACT
Sampe1 MG3 -----TCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC060657.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC060587.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC059005.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC053640.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC053907.1 -ATTTCTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC052867.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC052728.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC065156.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC065261.1 -ATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
MN746306.1 -----AT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC044106.1 TATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT
NC053327.1 TATTTTTTAT GGGCGAACGA CGGGAATTGA ACCCGCGCAT -GGTGGATTC ACAATCCACT

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      65      75      85      95      105     115
Sampe1 MT3 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
Sampe1 MG3 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC060657.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC060587.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATT-----ACT
NC059005.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT TTATATTACT
NC053640.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT TTATATTACT
NC053907.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC052867.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTCTAT T-----
NC052728.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC065156.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC065261.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
MN746306.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC044106.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----
NC053327.1 GCCTTGATCC ACTTGGCTAC ATCCGCCCTT ACTATTACTA GTATTTATAT T-----

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      125     135     145     155     165     175
Sampe1 MT3 --TATTTTAT TTCCATTTTA TTTTCAAATA ATATTTGATA AATAATATTT GATTTAAAAT
Sampe1 MG3 --TATTTTAT TTCCATTTTA TTTTCAAATA ATATTTGATA AATAATATTT GATTTAAAAT
NC060657.1 --TATTTTAT TTCCATTTTA TTTTCAAATA ATATTTGATA AATAATATTT GATTTAAAAT
NC060587.1 AGTATTTATA TTTATTTTAA TTTGAAAATA ATATTTTCATT TTTAATT---
NC059005.1 AGTATTTATA TTTATTTTAA TTTGAAAATA ATATTTTCATT TTTAATT---
NC053640.1 AGTATTTATA TTTATTTTAA TTTGAAAATA ATATTTTCATT TTTAATT---
NC053907.1 --TATATTTA TTCCATTTTA TTTTAAAATA ATATTTTATT AA-----
NC052867.1 --TATTTTAA TTCCATTTTA TTTTAAAATA ATATTTTATT TA-----
NC052728.1 --TATTTTAA TTCCATTTTA TTTTAAAATA ATATTTTATT TTTAATT---
NC065156.1 --TATTTTAA TTCCATTTTA TTTTAAAATA ATATTTTATT TTTAATT---
NC065261.1 --TATTTTAA TTCAATTTT TTTTAAATA -----TT AT-----
MN746306.1 --TATTTTAA AT-AATATT TATTTAAAAA -----T-----
NC044106.1 --TATTTTCC TTCCATTTTA TTTTAAATTT ATTTTATTTC CAATTTAATT TA-----
NC053327.1 --TATTTTCC TTCCATTTTA TTTTAAATTT ATTTTATTTC CAATTTAATT TA-----

```

```

....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      185      195      205      215      225      235
Sampe1 MT3 CAAAAAATAA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATCTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
Sampe1 MG3 CAAAAAATAA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATCTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC060657.1 CAAAAAATAA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATCTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC060587.1 -AAATAAATA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC059005.1 -AAATAAATA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC053640.1 -AAATAAATA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC053907.1 -AAAAA--- AAAAAAATT CATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC052867.1 -AAAAAATA AAAAAAATT CATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC052728.1 --AAAAATAA AAAAAA--TT CATAATGGAA AATATTTTCAT TT-----
NC065156.1 --AAAAATAA AAAAAA--TT CATAATGGAA AATATTTTCAT TT-----
NC065261.1 -AAAAA--- --ATAAATA AATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
MN746306.1 -AAAAAT--- --AAAAATT AATAATGGAA AATATTTTCAT TTCGATTGTT AATTTTAAAC
NC044106.1 -AAATAAT-- --ATTTTATT TTTAATTAAA AATAAAAAAAA ATTCATAAAT GAAAAATATT
NC053327.1 -AAATAAT-- --ATTTTATT TTTAATTAAA AATAAAAAAAA ATTCATAAAT GAAAAATATT

```

```

....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      245      255      265      275      285      295
Sampe1 MT3 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
Sampe1 MG3 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC060657.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC060587.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGAAGA
NC059005.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TA----- --GAAGCAGA
NC053640.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TA----- --GAAGCAGA
NC053907.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC052867.1 ATTTTTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC052728.1 ----TTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC065156.1 ----TTTT-A T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC065261.1 ATTTTTTTTA T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
MN746306.1 ATTTTTTTTA TTTTATCTT ACTATTTTTT TTATCTTACT TATGAGATAG AAAAAGCAGA
NC044106.1 CATTTTTTTA T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA
NC053327.1 CATTTTTTTA T----- CTTACT  TATGAGATAG AAGAAGCAGA

```

```

....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      305      315      325      335      345      355
Sampe1 MT3 AAATTCCTAAC CTTTCTA--- ---AGG--- ----AAAAA AAAA-----
Sampe1 MG3 AAATTCCTAAC CTTTCTA--- ---AGG--- ----AAAAA AAAA-----
NC060657.1 AAATTCCTAAC CTTTCTA--- ---AGG--- ----AAAAA AAAA-----
NC060587.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCGAA-- ---AAAAAA AAA-CTAGAA GATAATAATA
NC059005.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCGAA-- ---AAAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC053640.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCGAA-- ---AAAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC053907.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC052867.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC052728.1 AAATTGTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAA-ATAGAA GATAATAATA
NC065156.1 AAATTGTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAC--TAGAA GATAATAATA
NC065261.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
MN746306.1 AAATTCCTAAC CTTTCTATTT TATCTATTTT ATTCGAAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC044106.1 AAATTGTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA
NC053327.1 AAATTGTAAC CTTTCTATTT TATTTCG--- ----AAAAA AAAACTAGAA GATAATAATA

```

```

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
   365      375      385      395      405      415
Sample MT3 -----
Sample MG3 -----
NC060657.1 -----
NC060587.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATATA AATTAGAAAT TTATATCTAA
NC059005.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATATA AATTAGAAAT TTATATCTAA
NC053640.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATATA AATTAGAAAT TTATATCTAA
NC053907.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAAAA --TGTATATA AATGAAAAAT TCATATCTAA
NC052867.1 TCATAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAAAA AATGTATATA AATTAATAAT TCATATCTAA
NC052728.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATATA AATTAATAAT TCATATCTAA
NC065156.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATATA AATTAATAAT TCATATCTAA
NC065261.1 TCACAAAGCC TTAATAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATAGA AATGAAAAAT TTATATCTAA
MN746306.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAGAA --TGTATAGA AATGAAAAAT TCATATCTAA
NC044106.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAA-----
NC053327.1 TCACAAAGCC TTACAAAGGG TTGAAAAA-----

```

```

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
   425      435      445      455      465      475
Sample MT3 -----
Sample MG3 -----
NC060657.1 -----
NC060587.1 GAAAAAAAAA -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC059005.1 GAAAAAAAAA -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC053640.1 GAAAAAAAAA -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC053907.1 GAAAAAAAAA -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC052867.1 GGAAAAAAAAA AGTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC052728.1 GGAAAAAAAAA AGTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC065156.1 GGAAAAAAAAA AGTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC065261.1 GGAAAAAAAAA -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
MN746306.1 GGAAAAAAAAA AGTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC044106.1 ----- -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT
NC053327.1 ----- -GTATGATAC GCAATCATAA ACCAATCCCT AAGACTAGAA AACTTTTTCT

```

```

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
   485      495      505      515      525      535
Sample MT3 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CATATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
Sample MG3 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CATATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC060657.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CATATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC059005.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGGAAA GAAAAGAACA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC053640.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGGAAA GAAAAGAACA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC053907.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC052867.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC052728.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC065156.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC065261.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA ----- -GAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
MN746306.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC044106.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC
NC053327.1 TATGTTCAAG TAAAGAAAAA CTTATGTAAA GAAAAGAGCA ATAAATAAAG GAACAATAAC

```



```

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
   545       555       565       575       585       595
Sample MT3 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
Sample MG3 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC060657.1 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC0606587.1 CAATTTCTTA TTCTATCAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC059005.1 CAATTTCTTA TTCTATCAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC053640.1 CAATTTCTTA TTCTATCAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC053907.1 CAATTTATTA TTCTATTAAG AATGTTGATT ATTGCTCCTT TACTTTACTT TCCTTTCCAA
NC052867.1 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC052728.1 CAATTTCTTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC065156.1 CAATTTCTTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC065261.1 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
MN746306.1 CAATTTATTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC044106.1 CAATTTCTTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA
NC053327.1 CAATTTCTTA TTCTATTAAG AGTGTGGTT ATTGCTCCTT TACT-----T TCCTTTCCAA

```

```

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
   605       615       625       635       645       655
Sample MT3 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
Sample MG3 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC060657.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC0606587.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC059005.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC053640.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC053907.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC052867.1 TCAAAAACCT ACCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC052728.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC065156.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC065261.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
MN746306.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC044106.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT
NC053327.1 TCAAAAACCT GCCTACACTT ATACTAAGAC CAAAGCTCTA TCCATTTGTA GATGGAGCTT

```

```

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
   665       675       685       695       705       715
Sample MT3 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA AA-----
Sample MG3 CGACAGCAGC-----
NC060657.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC0606587.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC059005.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC053640.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC053907.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC052867.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC052728.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC065156.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC065261.1 CGATAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC0652728.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC044106.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC
NC053327.1 CGACAGCAGC TAGGTCTAGA GGGGAAGTTAT GAGCATTACG TTCATGCATA ACTTCCATAC

```

```

...|. ...|. ...|. ...|. ...|. ...|.
 725   735   745   755   765   775
-----
Sampel MT3
Sampel MG3
NC060657.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC060587.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC059005.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC053640.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC053907.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC052867.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC052728.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC065156.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC065261.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
MN746306.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC044106.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA
NC053327.1 CAAGATTAGC ACGATTAATA ATATCAGCCC AGGTATTAAT TACACGACCT TGACTATCAA

```

```

...|. ...|. ...|. ...|. ...|. ...|.
 785   795   805   815   825   835
-----
Sampel MT3
Sampel MG3
NC060657.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCTT ATACCTAAAG
NC060587.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAG- -----
NC059005.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGT--- -----
NC053640.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGT--- -----
NC053907.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTT- -----
NC052867.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTT-- -----
NC052728.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCT- -----
NC065156.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCTT -----
NC065261.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCTT ATACCTAAA-
MN746306.1 CTACGGATTG GTTGA-----
NC044106.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCTT ATACCTAAAG
NC053327.1 CTACGGATTG GTTGAAATTG AAACCGTTA GGTGAAAAGC CATAGTGCTT ATACCTAAAG

```

```

...|. ...|. ...|. ...|. ..
 845   855   865   875
-----
Sampel MT3
Sampel MG3
NC060657.1 AAGTGAACCA GATACCTACA ACAGGCCAAG CAGCTAGGAA GA
NC060587.1 -----
NC059005.1 -----
NC053640.1 -----
NC053907.1 -----
NC052867.1 -----
NC052728.1 -----
NC065156.1 -----
NC065261.1 -----
MN746306.1 -----
NC044106.1 AAGT-----
NC053327.1 AAGT-----

```


	365	375	385	395	405	415
MT3 Syzygi	AGAAAAGAGC	AATAAATAAA	GGAACAATAA	CCAATTTATT	ATTCTATTAA	GAGTGTGGT
MG3 Syzygi	AGAAAAGAGC	AATAAATAAA	GGAACAATAA	CCAATTTATT	ATTCTATTAA	GAGTGTGGT
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	AGAAAAGAGC	AATAAATAAA	GGAACAATAA	CCAATTTATT	ATTCTATTAA	GAGTGTGGT
Wil. psbA	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	425	435	445	455	465	475
MT3 Syzygi	TATTGCTCCT	TTACTTTCCT	TTCCAATCAA	AAACTCGCCT	ACACTTATAC	TAAGACCAAA
MG3 Syzygi	TATTGCTCCT	TTACTTTCCT	TTCCAATCAA	AAACTCGCCT	ACACTTATAC	TAAGACCAAA
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	TATTGCTCCT	TTACTTTCCT	TTCCAATCAA	AAACTCGCCT	ACACTTATAC	TAAGACCAAA
Wil. psbA	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	485	495	505	515	525	535
MT3 Syzygi	GTCATTATCCA	TTTGTAGATG	GAGCTTCGAC	AGCAGCTAGG	TCTAGAGGGA	AGTTATGAGC
MG3 Syzygi	GTCATTATCCA	TTTGTAGATG	GAGCT-CGAC	AGCAG-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	GTC-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	---TTATCCA	TTTGTAGATG	GAGCTTCGAC	AGCAGCTAGG	TCTAGAGGGA	AGTTATGAGC

	545	555	565	575	585	595
MT3 Syzygi	ATTACGTTCA	TGCATAAA--	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	ATTACGTTCA	TGCATAACTT	CCATACCAAG	ATTAGCACGA	TTAATAATAT	CAGCCAGGT

	605	615	625	635	645	655
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	ATTAATTACA	CGACCTTGAC	TATCAACTAC	GGATTGGTTG	AAATTGAAAC	CGTTTAGGTT

	665	675	685	695	705	715
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	GAAAGCCATA	GTGCTTATAC	CTAAAGAAGT	GAACCAGATA	CCTACAACAG	GCCAAGCAGC

	965	975	985	995	1005	1015
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	GTGCATAAGA	ATGTTGTGCT	CAGCCTGGAA	TACAATCATG	AAGTTGAAAG	TACCAGAAAT

	1025	1035	1045	1055	1065	1075
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	TCCTAGAGGC	ATACCATCAG	AAAAACTTCC	TTGACCAAAT	GGGTAGATCA	AGAAAACAGC

	1085	1095	1105	1115	1125	1135
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	AGTAGCAGCT	GCAACAGGAG	CTGAATATGC	AACAGCAATC	CAAGGGCGCA	TACCCAGACC

	1145	1155	1165	1175	1185	1195
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	GAAACTAAGT	TCCCCTCAC	GACCCATGTA	ACAAGCTACA	CCAAGTAAGA	AGTGTAGAAC

	1205	1215	1225	1235	1245	1255
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	AATTAACTCA	TAAGGACCGC	CGTTGTATAA	CCATTTCATCA	ACAGATGCCG	CTTCCCATAT

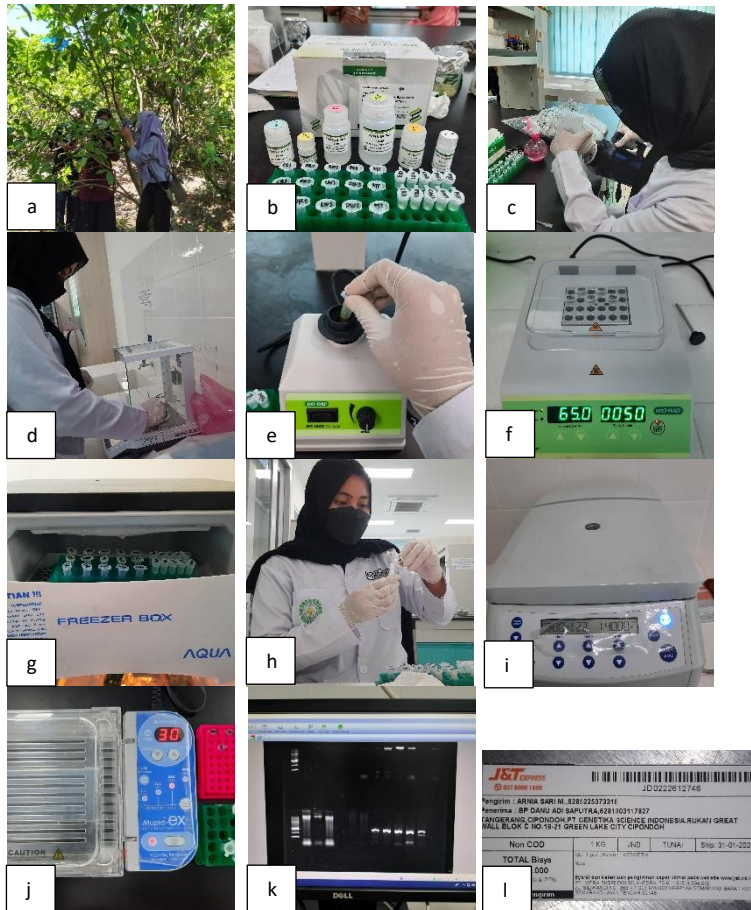
	1265	1275	1285	1295	1305	1315
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	TGGGTAAAAA	TGCAAACTTA	TAGCTGCAGA	AGTAGGAATA	ATGGCACCAG	AGATAATATT

	1325	1335	1345	1355	1365	1375
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	GTTTCCATAA	AGTAGAGATC	CAGAAACAGG	TTCACGAATA	CCATCAATAT	CCACTGGAGG

	1385	1395	1405	1415	1425	1435
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	AGCAGCAATG	AAGGCAATAA	TAAATACAGA	AGTTGCGGTC	AATAAGGTAG	GGATCATCAA

	1445	1455	1465	1475	1485	1495
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Wil. psbA	AACACCAAAC	CATCCAATGT	AAAGACGGTT	TTCGGTGCTG	GTTATCCAGT	TACAGAAGCG
	
	1505	1515	1525	1535	1545	
MT3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	
MG3 Syzygi	-----	-----	-----	-----	-----	
Wil. trnH	-----	-----	-----	-----	-----	
Wil. inter	-----	-----	-----	-----	-----	
Wil. psbA	ACCCCATAGG	CTTTCGCTTT	CGCGTCTCTC	TAAAATTGCA	GTCAT-	

Gambar lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Keterangan: (a) Pengambilan sampel; (b) Preparasi alat dan bahan isolasi DNA; (c) Proses penghancuran sampel; (d) Penimbangan sampel; (e) Proses homogenisasi sampel; (f) Proses pemanasan sampel (g) Proses pendinginan sampel; (h) Proses pemindahan sampel ke *microtube* baru; (i) Proses sentrifugasi; (j) Proses elektroforesis; (k) Proses visualisasi hasil isolasi dan PCR; (l) proses pengiriman amplicon ke 1st BASE DNA Sequencing, Malaysia

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Tiara Dwi Meilina
2. TTL : Jakarta, 16 Mei 2001
3. Alamat Rumah : Komplek TWP TNI-AL Blok
DD5/1A, RT 001, RW 020,
Ciangsana, Gunung Putri, Bogor
4. No. HP : 081283337459
5. E-mail : tiaradwii0516@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Hang Tuah 6
2. SDS Plus Hang Tuah 7
3. MTS Negeri 29 Jakarta
4. SMA Negeri 15 Kota Bekasi
5. S1 UIN Walisongo Semarang

C. Riwayat Organisasi

1. Pengurus Departemen Komunikasi dan Informasi
HMJ Biologi UIN Walisongo Semarang Tahun 2021
2. Koordinator Departemen Komunikasi dan
Informasi HMJ Biologi UIN Walisongo Semarang
Tahun 2022