

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN *DNA BARCODING*
Durio macrantha Kosterm. KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR**

SKRIPSI

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



Oleh:

Diyana Sabila Rusydina

NIM: 1908016051

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Diyana Sabila Rusydina

NIM : 1908016051

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN *DNA BARCODING*
Durio macrantha Kosterm. KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR**

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

Semarang, 07 April 2023

Diyana Sabila Rusydina

NIM: 1908016051



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS & TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Karakterisasi Morfologi Dan *DNA Barcoding*
Durio Macrantha Kosterm. Koleksi Kebun
Raya Bogor

Nama : Diyana Sabila Rusydina

NIM : 1908016051

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, 27 April 2023

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.

NIP. 198709112018012001

Penguji III

Dr. Lianah, M.Pd.

NIP. 195903131981032008

Pembimbing I

Arnia Sari Mukaromah, M. Sc

NIP. 198709112018012001

Penguji II

Mahat Magandhi, M.Si.

NIP. 19830808201012001

Penguji IV

Hafidha Asni Akmalia, M.Sc.

NIP. 198908212019032013

Pembimbing II

Mahat Magandhi, M. Si

NIP. 19830808201012001



NOTA DINAS

Semarang, 05 April 2023

Yth. Ketua Program Studi Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum. wr. wb.

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

Judul : Karakterisasi Morfologi Dan *DNA Barcoding*
Durio Macrantha Kosterm. Koleksi Kebun
Raya Bogor

Nama : Diyana Sabila Rusydina

NIM : 1908016051

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing I



Arnia Sari Mukaromah, M. Sc

NIP. 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, 11 April 2023

Yth. Ketua Program Studi Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum. wr. wb.

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

Judul : Karakterisasi Morfologi Dan *DNA Barcoding*
Durio Macrantha Kosterm. Koleksi Kebun
Raya Bogor

Nama : Diyana Sabila Rusydina

NIM : 1908016051

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum. wr. wb.

Pembimbing II



Mahat Magandhi, M. Si

NIP. 19830808201012001

MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan

ABSTRAK

Durio macrantha Kosterm. (Durian Dok) ditemukan pada tahun 1981 di Taman Nasional Gunung Leuser, Sumatra Utara. Spesies durian ini berhasil dikonservasikan di Kebun Raya Bogor (KRB) pada tahun 1994. Penelitian ini penting dilakukan karena adanya persamaan pada bagian morfologi *D. macrantha* dengan spesies *D. zibethinus* serta belum adanya data molekuler yang terdeposit di NCBI. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi secara morfologi dan DNA Barcoding *D. macrantha* koleksi KRB menggunakan sekuen *rbcl* dan ITS yang berfungsi untuk mengetahui profil dari kedua sekuen tersebut pada DNA *D. macrantha*. Penelitian ini menggunakan dua metode yaitu metode morfologi dan molekuler dengan DNA Barcoding. Hasil karakterisasi morfologi yang diperoleh dari *D. macrantha* koleksi KRB yaitu organ vegetatif tumbuhan yaitu daun memiliki dua warna yang berbeda pada permukaan atas dan bawah, susunan daun berselang-seling, terdapat swollen pada bagian tangkai, tekstur permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang lurus dengan arah percabangan menyebar, dan bentuk tajuk piramida. Terdapat karakter khusus yang membedakan dengan tumbuhan pada genus lain yaitu adanya trikoma pada bagian bawah daun. Hasil karakterisasi profil sekuen *rbcl* *D. macrantha* menunjukkan panjang 563 bp dengan presentase komposisi nukleotida (banyak mengandung nukleotida T dan A) yang terdiri dari T: 27,9%, C: 21,7%, A: 27,9, G: 22,6 %. Sedangkan karakterisasi profil sekuen ITS *D. macrantha* menunjukkan panjang 846 bp dengan presentase komposisi nukleotida (banyak mengandung nukleotida G dan C) yang terdiri dari T:13,7%, C:37,3%, A:16,9%, G:32,2%. Sementara itu, wilayah sekuen ITS pada *D. macrantha* yang diperoleh terbagi menjadi 3 yaitu ITS 1 dari panjang basa 103-392 bp, ITS 5,8 dari 393-555 bp, dan ITS 2 dari 556-790 bp.

Kata Kunci: *Durio macrantha*, karakterisasi morfologi, DNA Barcoding, *rbcl*, ITS

ABSTRACT

Durio macrantha Kosterm. (Durian Dok) was discovered in 1981 in Gunung Leuser National Park, North Sumatra. This durian species was successfully conserved in the Bogor Botanical Gardens (KRB) in 1994. This research was important because of the similarity in the morphology of *D. macrantha* with the species *D. zibethinus* and the absence of molecular data deposited in NCBI. So this study aims to characterize morphologically and DNA Barcoding of *D. macrantha* in the KRB collection using *rbcL* and ITS sequences which function to determine the profile of the two sequences in *D. macrantha* DNA. This study used two methods, namely morphological and molecular methods with DNA Barcoding. The results of the morphological characterization obtained from *D. macrantha* KRB collection are the vegetative organs of plants namely the leaves have two different colors on the upper and lower surfaces, the arrangement of the leaves is alternate, there is swelling on the stalk, the texture of the stem surface is rough, the growth direction of the stem is straight with the direction of the branching spreads, and the shape of the statue's crown. There is a special character that distinguishes it from plants in other genera, namely the presence of trichomes on the underside of the leaves. The results of the characterization of the *D. macrantha rbcL* sequence profile showed a length of 563 bp with a percentage of nucleotide composition (containing many T and A nucleotides) consisting of T: 27.9%, C: 21.7%, A: 27.9, G: 22 .6%. While the characterization of *D. macrantha* ITS sequence profile showed a length of 846 bp with a percentage of nucleotide composition (containing many G and C nucleotides) consisting of T: 13.7%, C: 37.3%, A: 16.9%, G: 32.2%. Meanwhile, the ITS sequence region in *D. macrantha* obtained was divided into 3, namely ITS 1 from 103-392 bp, ITS 5.8 from 393-555 bp, and ITS 2 from 556-790 bp.

Keywords: *Durio macrantha*, Morphological characterization, DNA Barcoding, *rbcL*, ITS

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan skripsi ini mengacu pada pedoman transliterasi huruf Arab-Latin sesuai dengan keputusan bersama (SKB) Menteri Agama serta Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158 Tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987. Berikut daftar huruf Arab disertai dengan transliterasi huruf Latin lengkap:

Huruf Arab	Huruf Latin	Huruf Arab	Huruf Latin	Huruf Arab	Huruf Latin
ا	-	ش	SY	ها	HA
ب	B	ص	S	ء	-
ت	T	ض	D	ي	Y
ث	S	ط	T		
ج	J	ظ	Z		
ح	H	ع	-		
خ	KH	ف	G		
د	D	ك	K		
ذ	Z	ل	L		
ر	R	م	M		
ز	Z	ن	N		
س	S	و	W		

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Karakterisasi Morfologi Dan DNA Barcoding *Durio Macrantha* Kosterm. Koleksi Kebun Raya Bogor”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana (S- 1) sains dalam Ilmu Biologi.

Shalawat serta salam senantiasa penulis curahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi anugerah bagi alam semesta dan suri tauladan bagi umatnya untuk senantiasa berjuang mencari dan mengamalkan ilmu yang diperoleh. Penulis menyadari bahwa dalam menyusun naskah skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan arahan banyak pihak dalam memberikan bantuan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan petunjuk dan karunia-Nya yang tak terhingga, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik;

2. Kedua orang tua dan kedua kakak saya yang telah memberikan semangat dan dorongan baik secara material maupun spiritual.
3. Prof. Dr. K. H. Imam Taufiq, M.Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
4. Dr. H. Ismail, M.Ag., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
5. Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si., selaku ketua program studi Biologi UIN Walisongo Semarang;
6. Arnia Sari Mukaromah, M.Sc dan Mahat Magandhi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan arahan dalam proses penelitian sampai terselesaikannya naskah skripsi ini;
7. Andang Syaifudin, M.Sc., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama masa perkuliahan;
8. Seluruh staff peneliti Laboratorium Molekuler Kebun Raya Bogor yang telah membantu dan memberikan arahan selama proses penelitian;
9. Teman-teman seperjuangan dan seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis tidak mampu memberikan balasan melainkan ucapan terima kasih dan doa agar semoga Allah SWT memberikan ridho-Nya dan membalas kebaikan kepada pihak yang membantu. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan perkembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.

Semarang, 07 April 2023

Penulis

Diyana Sabila Rusydina

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
NOTA DINAS.....	v
MOTTO.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
TRANSLITERASI ARAB-LATIN.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
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	9

A.	Kajian Pustaka.....	9
1.	Durio macrantha Kosterm.....	9
2.	Persebaran Durio macrantha.....	11
3.	Morfologi Tumbuhan.....	13
4.	DNA Barcoding.....	14
5.	Sekuens DNA.....	27
B.	Pemanfaatan Buah dalam Perspektif Islam.....	30
C.	Kajian Penelitian yang Relevan	32
BAB III METODE PENELITIAN		37
A.	Tempat dan Waktu Penelitian	37
B.	Alat dan Bahan	37
1.	Alat	37
2.	Bahan.....	38
C.	Prosedur Kerja	39
1.	Pengamatan Morfologi.....	39
2.	Pengamatan Molekuler	42
D.	Alur Penelitian.....	51
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		52
A.	Deskripsi Hasil Penelitian.....	52
1.	Karakterisasi Morfologi Durio macrantha.....	52
2.	Karakterisasi DNA Barcoding	60
B.	Pembahasan Hasil Penelitian.....	81
1.	Karakterisasi Morfologi Durio macrantha.....	81
2.	Karakterisasi DNA Barcoding	93

BAB V PENUTUP.....	117
A. Kesimpulan	117
B. Saran.....	118
DAFTAR PUSTAKA	119
LAMPIRAN.....	136
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	157
A. Identitas Diri.....	157
B. Riwayat Pendidikan	157

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 3.1	Sampel <i>Durio macrantha</i>	38
Tabel 3.2	Sekuen <i>rbcL</i> dan ITS	46
Tabel 4.1	Pengamatan Morfologi <i>Durio macrantha</i>	53
Tabel 4.2	Tipe trikoma pada daun <i>Durio macrantha</i>	60
Tabel 4.3	Sekuen <i>rbcL</i> hasil BLAST	64
Tabel 4.4	Komposisi nukleotida sekuen <i>rbcL</i>	68
Tabel 4.5	Sekuen ITS hasil BLAST	72
Tabel 4.6	Komposisi nukleotida sekuen ITS	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Morfologi <i>Durio macrantha</i> (a. pohon dan b. daun)	11
Gambar 2.2	Taman Nasional Gunung Leuser, Sumatra Utara	12
Gambar 2.3	<i>Coding region</i>	15
Gambar 2.4	Tahap <i>Polymerase Chain Reaction</i>	21
Gambar 2.5	Metode elektroforesis	23
Gambar 2.6	Analisis data	26
Gambar 2.7	Region ITS1 dan ITS2	30
Gambar 3.1	Peta lokasi spesimen vak XIX.F	50
Gambar 3.2	Alur penelitian	49
Gambar 4.1	Tinggi pohon <i>Durio macrantha</i>	55
Gambar 4.2	Kondisi lingkungan vak XIX.F	55
Gambar 4.3	Pola vena pada daun <i>family Malvaceae</i> (a.) dan daun <i>Durio macrantha</i> (b.)	56
Gambar 4.4	Pola areola <i>Durio macrantha</i>	57
Gambar 4.5	Pola <i>veinlets</i> <i>Durio macrantha</i>	57
Gambar 4.6	Tipe trikoma pada daun <i>Durio macrantha</i>	58

Gambar 4.7	Visualisasi hasil isolasi DNA <i>Durio macrantha</i>	61
Gambar 4.8	Amplifikasi pita DNA <i>Durio macrantha</i> sekuen <i>rbcl</i>	62
Gambar 4.9	Elektroforegram sekuen <i>rbcl</i>	63
Gambar 4.10	Pohon filogenetik sekuen <i>rbcl</i>	66
Gambar 4.11	Amplifikasi pita DNA <i>Durio macrantha</i> sekuen ITS	70
Gambar 4.12	Elektroforegram sekuen ITS	71
Gambar 4.13	Pohon filogenetik sekuen ITS	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 2	Parameter karakterisasi morfologi	136
Lampiran 11	Hasil <i>contig</i> sekuen <i>rbcL</i>	145
Lampiran 12	Hasil <i>contig</i> sekuen ITS	145

DAFTAR TABEL LAMPIRAN

Tabel Lampiran	Judul	Halaman
Tabel Lampiran 1	Analisis hasil BLAST sekuen <i>rbcL</i>	147
Tabel Lampiran 2	Analisis hasil BLAST sekuen ITS	149
Tabel Lampiran 3	Jarak genetik sekuen <i>rbcL</i>	150
Tabel Lampiran 4	Jarak genetik sekuen ITS	151

DAFTAR GAMBAR LAMPIRAN

Gambar Lampiran	Judul	Halaman
Gambar Lampiran 1	Dokumentasi penelitian	135
Gambar Lampiran 2	Bentuk bilah daun	136
Gambar Lampiran 3	Tepi daun	137
Gambar Lampiran 4	Bentuk ujung daun	139
Gambar Lampiran 5	Bentuk pangkal daun	140
Gambar Lampiran 6	Sikap daun	140
Gambar Lampiran 7	Arah percabangan	141
Gambar Lampiran 8	Bentuk tajuk	142
Gambar Lampiran 9	Warna daun <i>Durio macrantha</i> 86 a	144
Gambar Lampiran 10	Warna daun <i>Durio macrantha</i> 86 b	144
Gambar Lampiran 13	<i>Multiple alignment</i> sekuen <i>rbcl</i>	154
Gambar Lampiran 14	<i>Multiple alignment</i> sekuen ITS	155

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara megabiodiversitas yang menempati peringkat kedua setelah Brazil, karena memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Keanekaragaman hayati tersebut tersebar kurang lebih di 17.000 pulau dengan jumlah keanekaragaman tumbuhan sekitar 38.000, diantaranya sebanyak 55% dinyatakan sebagai tumbuhan endemik Indonesia khususnya kelompok buah-buahan (Fikri, 2022). Tumbuhan dari kelompok buah-buahan di Indonesia memiliki potensi besar yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat. *Durio* spp. atau yang dikenal dengan sebutan “*the king of fruits*” merupakan tumbuhan dari kelompok buah-buahan (Sugiyanta and Aziz, 2016; Thorogood *et al.*, 2022). Sementara itu, buah durian merupakan buah populer dikalangan masyarakat karena memiliki rasa, bau, dan bentuk unik. Berdasarkan keanekaragaman durian di Indonesia terdapat sebanyak 20 jenis dari 27-30 jenis durian di Dunia, sehingga Indonesia dijadikan sebagai pusat keanekaragaman durian di Dunia. Jumlah keanekaragaman durian yang tersebar di Indonesia seperti di wilayah Sumatra terdapat 7 jenis, untuk wilayah

Jawa, Bali, Sulawesi, dan Maluku masing-masing terdapat satu jenis, serta wilayah Kalimantan terdapat 18 jenis, diantaranya 14 jenis tercatat sebagai tumbuhan buah endemik dan 9 dinyatakan sebagai tumbuhan buah yang dapat dimakan (Kostermans, 1958; Sugiyanta and Aziz, 2016; Thorogood *et al.*, 2022). Penyebaran tersebut disebabkan karena durian mudah tumbuh di perkebunan, halaman rumah, maupun tumbuh liar di pedalaman hutan primer atau sekunder. Namun, keanekaragaman durian di Indonesia belum diketahui secara lengkap dan upaya proses koleksi dari berbagai jenis durian tersebut belum optimal karena beberapa faktor seperti penyusutan wilayah atau fungsi hutan, cuaca ekstrem, dan kesalahan dalam proses pemanenan yang mengakibatkan beberapa jenis durian tersebut terancam punah bahkan masuk kedalam kategori langka (Aprilianti, 2019). Oleh karena itu, keberadaan kawasan konservasi di Indonesia sangat diperlukan untuk menghindari adanya kepunahan terhadap beberapa jenis tumbuhan endemik di Indonesia.

Salah satu kawasan konservasi tumbuhan di Indonesia adalah Kebun Raya Bogor (KRB) yang berada dibawah pengelolaan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). KRB memiliki fungsi khusus yaitu sebagai kawasan konservasi *ex situ* tumbuhan tropis di Indonesia. Oleh karena itu, berdasarkan fungsi Kebun Raya Bogor perlunya kegiatan

berupa eksplorasi guna konservasi dan pemenuh kelengkapan data serta koleksi tumbuhan di Indonesia (Aprilianti, 2019). Upaya konservasi dan pemenuh kelengkapan data bertujuan untuk karakterisasi, pengumpulan, pengkoleksian material, dan pelestarian terhadap keanekaragaman tumbuhan khususnya buah durian yang berhasil dikoleksi dari berbagai spesies (Thorogood *et al.*, 2022; Aprilianti, 2019).

Aprilianti (2019) menyatakan bahwa spesies durian yang berhasil dikoleksi KRB sebanyak 8 jenis dari 20 jenis durian di Indonesia. Salah satunya yaitu spesies *Durio macrantha* atau yang biasa disebut dengan durian Dok. *D. macrantha* ditemukan pada tahun 1981 di Taman Nasional Gunung Leuser, Sumatra Utara (Kostermans, 1958; Thorogood *et al.*, 2022). Spesies ini memiliki kemiripan dengan spesies *Durio zibethinus* yaitu bentuk buah bulat berukuran 14 x 21 cm dan kulit buah berwarna coklat (Aprilianti, 2019). Namun, *D. macrantha* memiliki keunggulan dibandingkan dengan *D. zibethinus* yaitu aroma yang relatif tidak menyengat, tidak memiliki nektar, ukuran bunga yang lebih besar dan tinggi pohon lebih pendek (Kostermans, 1992). Selain itu *D. macrantha* menghasilkan buah lebih banyak berkisar 40 buah/pohon. Jumlah tersebut jauh lebih banyak dibandingkan dengan *D. zibethinus* yang menghasilkan buah berkisar 20-30 buah/pohonnya, ketika masa perbuahan berlangsung

(Susilawati and Sabran, 2018; Aprilianti, 2019; Rediyono, dan Asruni, 2020). Keunggulan spesies *D. macrantha* tersebut dianggap memiliki potensi besar untuk dapat dikembangkan (Kostermans, 1958). Namun, berdasarkan dari beberapa sumber menyatakan bahwa banyak yang belum mengetahui mengenai keanekaragaman buah durian khususnya spesies *D. macrantha* yang dapat digunakan dan dikembangkan sebagai tumbuhan endemik dengan potensi besar. Oleh karena itu, perlunya upaya konservasi dan kelengkapan data terhadap tumbuhan (Aprilianti, 2019).

Upaya konservasi dan pemenuh kelengkapan data dapat direalisasikan dengan melakukan proses karakterisasi melalui kombinasi dua metode yaitu metode morfologi tumbuhan secara kualitatif dan kuantitatif dengan pengamatan menggunakan beberapa parameter serta metode molekuler dengan menggunakan teknik *DNA barcoding* (Purty and Chatterjee, 2016; DeSalle and Goldstein, 2019). Metode morfologi terhadap material tumbuhan bertujuan untuk mengkonfirmasi identitas dari suatu jenis atau spesies tumbuhan. Namun, karakter morfologi tumbuhan dapat dipengaruhi oleh lingkungannya, sehingga akan menunjukkan karakter yang kurang spesifik. Sementara itu, penggunaan metode ini juga tidak dapat digunakan untuk memecahkan spesies secara kompleks (Zein dan Prawiladilaga 2013).

Sedangkan metode molekuler dengan menggunakan teknik *DNA barcoding* bertujuan untuk mengidentifikasi suatu spesies tumbuhan menggunakan sekuens DNA pendek dari gen spesifik dengan menggunakan satu atau beberapa region yang disebut dengan *DNA barcode*. Sehingga penggunaan teknik ini dianggap sangat akurat (Purty and Chatterjee, 2016). Sementara itu, hasil *DNA barcoding* dapat digunakan untuk merekonstruksi pohon filogenetik untuk dapat mengetahui keragaman dan kedekatan suatu spesies (Vere *et al.*, 2015). Sehingga penggunaan *DNA barcoding* dapat mendukung data yang diperoleh dari metode morfologi dalam penentuan spesies dan data molekuler yang dihasilkan dapat disimpan dalam sistem penyimpanan data berupa *GenBank* seperti *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Berdasarkan pengamatan data molekuler di sistem penyimpanan data NCBI menunjukkan bahwa belum adanya data yang terdeposit mengenai spesies *D. macrantha*. Hal tersebut diperkuat dengan status data yang dipublikasikan oleh *Internal Union for Conservation of Nature's* (IUCN) yang menunjukkan *Data Deficient* (DD) pada spesies *D. macrantha* (Rahman, 2021). Kurangnya data molekuler dari spesies *D. macrantha* di NCBI dan status *Data Deficient* menjadi salah satu permasalahan dalam penelitian ini. Data molekuler tersebut tidak hanya bertujuan untuk membantu dalam proses

identifikasi, namun juga mendukung upaya konservasi genetik pada spesies. Oleh karena itu, penelitian ini akan menggunakan dua sekuens DNA yaitu *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit (rbcL)* dan *Internal Transcribed Spacer (ITS)*. Sekuen *rbcL* merupakan sekuen pengkode DNA tumbuhan yang disarankan oleh *Consortium for the Barcoding of Life (CBOL)* untuk digunakan dalam *DNA barcoding* karena memiliki beberapa keunggulan seperti tingkat mutasi rendah, sehingga dapat digunakan untuk membandingkan tingkatan taksonomi yang lebih tinggi (Basith, 2015). Sedangkan sekuen ITS merupakan sekuen yang memiliki tingkat variasi dan sensitivitas tinggi dengan memiliki salinan pada genom inti sebanyak 30.000/sel. Sementara itu, sekuen ini memiliki tingkat mutasi tinggi, sehingga dapat digunakan untuk menentukan pola kekerabatan pada tingkatan taksonomi yang lebih rendah (Singh and Vijai, 2016; Ramdhini and Jannah, 2021). Kombinasi metode morfologi dan molekuler diharapkan menunjukan karakterisasi dari spesies *D. macranta* koleksi Kebun Raya Bogor sebagai pemenuh kelengkapan data dan dapat dijadikan data acuan.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakter morfologi *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor?

2. Bagaimana profil sekuen *rbcL* pada *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor?
3. Bagaimana profil sekuen ITS pada *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendeskripsikan karakter morfologi pada *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor.
2. Menganalisis profil sekuen *rbcL* pada *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor.
3. Menganalisis profil sekuen ITS pada *Durio macrantha* koleksi Kebun Raya Bogor.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki banyak manfaat dalam bidang keilmuan meliputi:

1. Teoritis

Secara umum, penelitian ini berguna dalam pengembangan ilmu pengetahuan dalam bidang biologi baik secara menyediakan data morfologi dan molekuler yang dapat digunakan sebagai literatur atau sebagai referensi dalam bidang morfologi dan genetika molekuler terkait dengan spesies *Durio* bagi penelitian selanjutnya.

2. Praktis

- a) Bagi penulis menambah pengetahuan dan melatih keterampilan mengenai karakterisasi tumbuhan.

- b) Bagi masyarakat memberikan informasi mengenai karakterisasi tumbuhan endemik dan menyadarkan masyarakat akan potensi besar yang dapat dimanfaatkan.
- c) Bagi universitas upaya kontribusi untuk merealisasikan visi misi universitas.
- d) Bagi kebun raya bogor upaya karakterisasi dan konservasi tumbuhan endemik secara morfologi dan *DNA barcoding* untuk mendapatkan informasi akurat.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Pustaka

1. *Durio macrantha* Kosterm.

Durio macrantha Kosterm. memiliki nama lokal durian Dok yang ditemukan pada tahun 1981 di Taman Nasional Gunung Leuser, Sumatra Utara oleh Mr. H. Rijksen dari lembaga pusat rehabilitasi orang utan di Sumatra. Penemuan tersebut kemudian diberikan kepada Dr. Kostermans untuk dibudidayakan di taman pribadi halaman rumah beliau di Gadog, Bogor, Jawa Barat. *D. macrantha* memiliki morfologi berupa jumlah bunga berkisar ratusan dan ukuran bunga relatif besar dengan bentuk kelopak bunga mirip dengan tabung yang akan terbuka ketika waktu sore hari, batang berwarna abu-abu dengan banyak cabang, daun berbentuk pangkal membulat serta ujung berbentuk runcing. Sementara itu, daun *D. macrantha* memiliki dua warna seperti spesies lainnya yang termasuk marga *Durio* spp. yaitu pada bagian atas berwarna hijau mengkilap dan pada bagian bawah coklat keemasan. Kulit buah *D. macrantha* berwarna coklat dilengkapi dengan duri serta di dalamnya terdapat biji berwarna coklat kekuningan ditutupi dengan daging buah

yang relatif tebal (Kostermans, 1992; Kostermans, 1958; Aprilianti, 2019). Morfologi *D. macrantha* bagian pohon dan daunnya dapat dilihat pada Gambar 2.1. Berdasarkan morfologi buah *D. macrantha* tersebut, memiliki beberapa kesamaan dengan spesies *Durio zibethinus* yaitu bentuk buah bulat berukuran 14 x 21 cm dan kulit buah berwarna coklat (Aprilianti, 2019). Namun, dari pengamatan secara morfologi *D. macrantha* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan *D. zibethinus* yaitu aroma yang relatif tidak menyengat, bagian bunga tidak berbau, tidak memiliki nektar, ukuran bunga lebih besar, dan tinggi pohon lebih pendek berkisar 8-10 M dibandingkan dengan *D. zibethinus* yang memiliki tinggi berkisar 20-30 M (Kostermans, 1958; Zappala *et al.*, 2002). Berikut klasifikasi dari *D. macrantha*:

Kingdom : Plantae

Class : Magnoliopsida

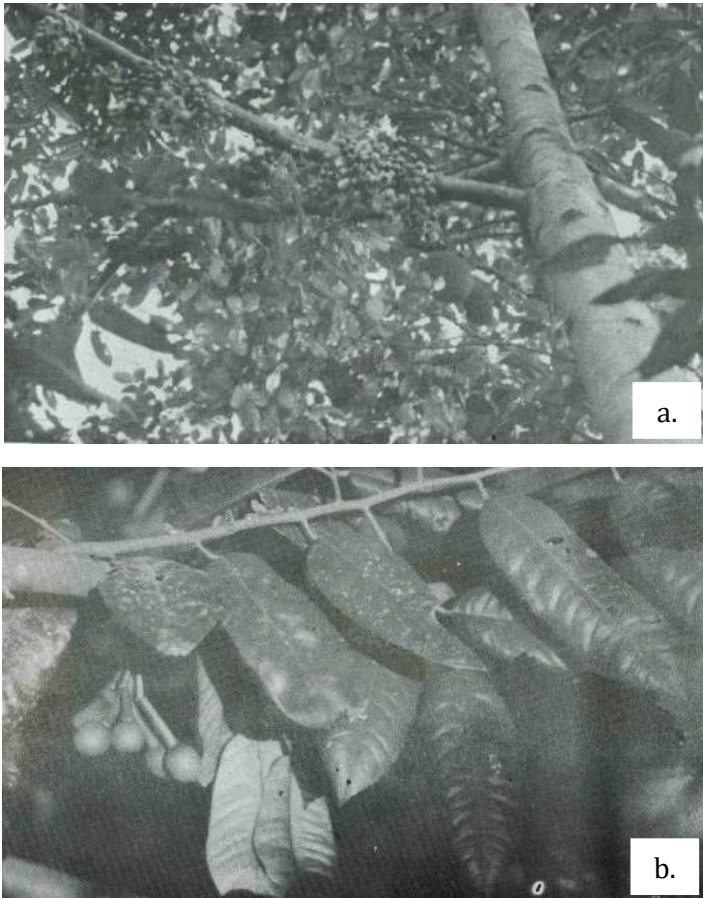
Subclass : Angiosperms

Order : Malvales Juss.

Family : Malvaceae Juss.

Genus : *Durio* Adans

Species : *Durio macrantha* Kosterm. (WFO, 2022).



Gambar 2.1 Morfologi *Durio macrantha* (a. pohon dan b. daun) (Kostermans, 1958)

2. Persebaran *Durio macrantha*

Spesies *Durio* umumnya hidup di daerah tropis atau daerah yang dilalui oleh garis katulistiwa dengan intensitas curah hujan, kelembapan, suhu, kecepatan

angin, jarak penanaman, dan sinar matahari yang cukup seperti di Indonesia, Sri Lanka, India, Myanmar, Thailand, dan Malaysia (Thorogood *et al.*, 2022). Sementara itu, habitat spesies *Durio* umumnya terdapat di dataran rendah - sedang (<1.000 m dpl), namun terdapat beberapa spesies *Durio* yang dapat tumbuh di dataran tinggi (>1.000 m dpl) (Priyanti, 2012; Krismawati, 2016). Persebaran beberapa spesies *Durio* di Indonesia terdapat di beberapa wilayah. Salah satunya persebaran spesies *D. macrantha* di Indonesia yang diperkirakan terdapat di wilayah Sumatra tepatnya di Taman Nasional Gunung Leuser yang dapat dilihat pada Gambar 2.2 (POWO, 2022).



Gambar 2.2 Taman Nasional Gunung Leuser, Sumatra Utara (Kotak ungu merupakan tempat penemuan *Durio macrantha*) (GBIF, 2021)

3. Morfologi Tumbuhan

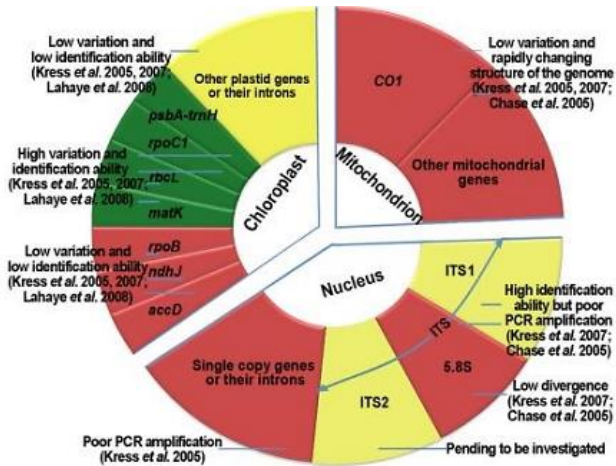
Istilah morfologi tumbuhan pertama kali dikemukakan oleh Johann Wolfgang Von Goethe pada tahun 1790 dalam publikasinya di *The Metamorphosis of Plants* (Liunokas dan Agsen, 2021). Morfologi tumbuhan merupakan metode yang mengkaji mengenai bentuk dan susunan serta menentukan fungsi dari bagian luar tubuh tumbuhan dengan menggunakan 4 aspek utama yaitu deskripsi bentuk, klasifikasi bentuk, morfogenesis, dan hubungan antara bentuk dan fungsi tubuh tumbuhan (Tjitrosoepomo, 1985; Periasamy and Swamy, 1977). Sementara itu, pengamatan menggunakan metode morfologi tumbuhan didasarkan atas 5 bagian utama tubuh tumbuhan yaitu akar, batang, daun, bunga, dan buah. Sehingga metode ini berfungsi untuk mendapatkan informasi morfologi tumbuhan yang dibutuhkan untuk memahami siklus hidup, penyebaran geografis, ekologi, evolusi, konservasi, dan deskripsi dari spesies tumbuhan. Penggunaan metode morfologi tumbuhan juga dapat membandingkan berdasarkan aspek yang digunakan dan menjadi dasar dalam mengkaji struktur tubuh tumbuhan karena merangkap 5 bagian yang menjadi struktur pokok tubuh tumbuhan bagian luar (Tjitrosoepomo, 1985). Sehingga morfologi tumbuhan dijadikan salah satu

metode dalam pengamatan suatu tumbuhan, namun terdapat kekurangan menggunakan metode morfologi tumbuhan yaitu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi bagian morfologi tumbuhan tersebut. Sehingga perlu penggunaan metode lain untuk memperkuat hasil yang diperoleh dari metode morfologi tumbuhan seperti metode molekuler (*DNA Barcoding*) (Ramdhini dan Jannah, 2021).

4. *DNA Barcoding*

DNA barcoding pertama kali dikemukakan kepada kalangan umum oleh Dr. Paul Herbert dan rekannya di *Cold Spring Harbor Laboratory* pada tahun 2003 (Hebert *et al.*, 2003). Penemuan *DNA barcoding* tersebut membawa perubahan besar bagi penelitian khususnya di bidang sains, sehingga dapat memudahkan para peneliti dalam melakukan proses penelitian. *DNA barcoding* merupakan teknik untuk mengidentifikasi suatu spesies menggunakan sekuens DNA pendek yang disebut *DNA barcode* karena berasal dari gen spesifik dengan menggunakan satu atau beberapa coding region. Umumnya coding region dibagi menjadi 3 jenis yang dapat dilihat pada Gambar 2.3 yaitu DNA inti (ITS), DNA mitokondria (CO1), dan DNA kloroplas (*rbcL*, *trnL-F*,

matK, *psbA*, *trnH*, *psbK*) (Purty and Chatterjee, 2016; Kress and Erickson, 2007).



Gambar 2.3 Coding region (Kress & Erickson, 2007)

Prinsip kerja *DNA barcoding* relatif sederhana meliputi beberapa tahapan yang dilakukan dengan mengisolasi dan mengamplifikasi gen menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sementara itu, proses ini juga memerlukan sepasang primer dari gen yang digunakan. Sehingga hasil dari proses amplifikasi biasanya memiliki ukuran pendek berkisar 600-800 *base pair* (bp) (Sunaryo, 2015). Berikut prinsip kerja *DNA barcoding*:

a. Isolasi DNA

Metode isolasi DNA pertama kali ditemukan oleh ilmuwan dari Swiss yaitu Friedrich Miescher pada tahun 1869. Isolasi DNA merupakan metode pemurnian DNA suatu sampel dengan menggunakan kombinasi metode fisika dan kimia tanpa merusak DNA. Prinsip utama isolasi DNA dibagi menjadi 3 yaitu terjadinya proses lisis yang bertujuan untuk mengeluarkan DNA dari sampel, memisahkan DNA dari komponen lain, dan memurnikan DNA pada sampel (Prihanto, dan Abdul, 2019). Sampel yang digunakan pada isolasi DNA dapat berasal dari beberapa sumber seperti sampel forensik (darah dan sidik jari), jaringan hewan, dan tumbuhan. Proses isolasi DNA yang diambil dari sampel jaringan tumbuhan dapat diperoleh pada beberapa bagian tubuh tumbuhan seperti daun, biji, bunga, buah, dan kulit batang. Namun penggunaan sampel daun sering digunakan karena jaringan daun lebih mudah diekstrak atau proses penghancuran sel lebih mudah dibandingkan bagian lainnya (Syafaruddin *et al.*, 2011). Sehingga berdasarkan sumber sampel tersebut membuat metode isolasi DNA berkembang

pesat dengan menunjukkan tahapan isolasi DNA yang relatif lebih mudah (Dairawan and Preetha, 2020).

Isolasi DNA dilakukan dalam beberapa tahapan. Tahap pertama dilakukan pengambilan sampel dan preservasi. Tujuan tahap tersebut untuk memperoleh sampel DNA yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi dalam menghasilkan DNA dengan kualitas baik. Tahap kedua ekstraksi DNA yang diperoleh dari sampel. Tahap ini bertujuan untuk mengisolasi DNA genom (Sunaryo, 2015). Isolasi DNA dibagi menjadi 2 metode yaitu metode konvensional dan metode modern dengan menggunakan kit. Penggunaan metode tersebut memiliki keunggulan masing-masing disesuaikan dengan sampel yang akan digunakan. Metode isolasi DNA secara konvensional dapat dilakukan dengan menggunakan metode CTAB, SDS (*Sodium Dodecyl Sulfat*), metode fenol atau kloroform, dan metode penggunaan pasir silika. Sedangkan metode isolasi DNA secara modern dapat menggunakan berbagai macam kit seperti Kit TianGen, Geneaid, dan Genejet (Dairawan and Preetha, 2020). Selain itu penggunaan jenis sampel dalam proses isolasi DNA dapat mempengaruhi hasil ekstraksi, umumnya sampel DNA dari herbarium

lebih sulit dibandingkan sampel segar (Vere et al., 2015).

b. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) pertama kali ditemukan oleh Karry Mullis pada tahun 1985. PCR merupakan teknik amplifikasi sekuen DNA secara *in vitro*. Teknik ini bertujuan untuk dapat menggandakan DNA berdasarkan lokasi gen target. Penggunaan teknik PCR tersebut dilakukan dengan menyesuaikan panjang fragmen DNA dan menggunakan primer atau sekuen spesifik dari gen target dengan menggunakan siklus berulang yang terdiri dari beberapa tahapan dan komponen. Biasanya komponen yang diperlukan dalam teknik PCR yaitu templat DNA, sepasang primer yang memiliki urutan nukleotida, dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*), *Buffer* PCR, magnesium klorida ($MgCl_2$), dan DNA polimerase (Handoyo and Rudiretna, 2001; Sunaryo, 2015). PCR memiliki prinsip kerja yaitu untai ganda DNA akan dipisahkan melalui proses denaturasi dan didinginkan hingga mencapai suhu tertentu. Tujuan dari proses denaturasi dan pendinginan yaitu untuk memberikan waktu pada primer agar dapat menempel pada

daerah sekuen target. Kemudian DNA polimerase akan mengalami pemanjangan primer yang akan mengakibatkan DNA target mengalami peningkatan secara eksponensial dan DNA non-target akan meningkat secara linear (Handoyo and Rudiretna, 2001).

Proses PCR memiliki beberapa tahapan penting secara berulang dalam 30-40 siklus yang berlangsung sangat cepat dan akan mengakibatkan terjadinya duplikasi jumlah DNA (Gambar 2.4). Siklus yang sering digunakan dalam penelitian yaitu 30 siklus, namun untuk penelitian amplifikasi DNA tumbuhan biasanya berlangsung dalam 35 siklus. Jika penggunaan siklus lebih dari 35 siklus maka akan mengakibatkan peningkatan jumlah produk non-target pada sampel dan tidak akan menunjukkan peningkatan jumlah ampikon. Berikut tahapan PCR:

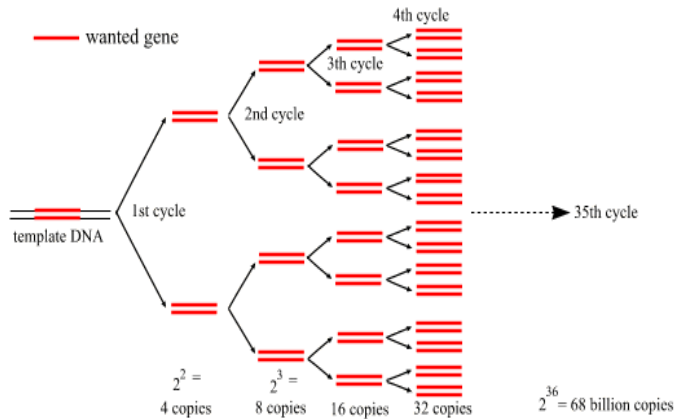
- 1) Tahap pertama Pra-Denaturasi merupakan tahap awal sebelum melakukan tahap denaturasi. Tujuan tahap ini untuk memungkinkan DNA untai ganda (ds-DNA) terbuka menjadi untai tunggal. Tahap ini biasanya berlangsung selama 3-10 menit pada suhu 94-95 °C. Apabila tahap ini tidak dilakukan

atau dilewati maka akan berpengaruh terhadap keberhasilan proses PCR;

- 2) Denaturasi merupakan tahap pembukaan DNA untai ganda (ds-DNA) menjadi DNA tunggal dengan pemecahan ikatan hidrogen, sehingga terjadi penyatuan antara untai ganda DNA. Proses denaturasi berlangsung selama 60 detik pada suhu 95-98 °C. proses ini menghasilkan 2 untai tunggal DNA (ss DNA) yang berfungsi sebagai templat untuk pemasangan primer sintetis;
- 3) Annealing merupakan proses penempelan primer menuju templat atau daerah target yang komplemen dengan urutan primer yang disebabkan oleh penurunan suhu, sehingga akan membentuk ikatan hidrogen baru antar primer dengan urutan komplemen pada templat. Proses annealing biasanya berlangsung selama 60-12 detik pada suhu 37-50 °C;
- 4) Ekstensi merupakan proses pemanjangan primer pada daerah target oleh DNA-Polimerase. Proses ini membutuhkan suatu enzim yang dapat mensintesis salinan komplemen dari untai tunggal dengan pemanjangan 3'. Sementara itu,

proses ini berlangsung selama 60-120 detik pada suhu 72 °C;

- 5) Pos-Ekstensi merupakan proses pematapan dari proses ekstensi yang dilakukan sebelumnya (Giasuddin, 1995).



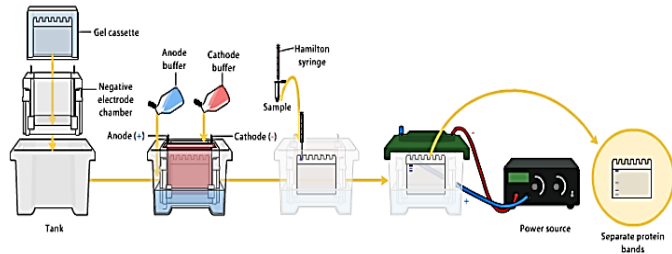
Gambar 2.4 Tahap *Polymerase Chain Reaction* (Vanfleteren & Vierstraete, 1999)

c. Visualisasi pita DNA

Proses visualisasi pita DNA dilakukan dengan metode elektroforesis dan menggunakan GelDoc yang dapat dilihat pada Gambar 2.5. Metode elektroforesis ditemukan pertama kali oleh P. I Strakhov dan F. F Reus pada tahun 1807. Metode elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul organik

seperti DNA, RNA, dan protein (memiliki muatan positif atau negatif) melalui media berpori dengan dialiri medan listrik yang dihasilkan dari elektroda (Syaifudin, 2021). Terdapat 2 jenis media berpori yaitu gel *agarose* dan gel *acrylamide*. Gel *agarose* merupakan media berpori yang paling banyak digunakan dalam metode elektroforesis dengan menggunakan molekul organik seperti DNA dan RNA, sedangkan gel *acrylamide* dapat digunakan pada molekul organik seperti protein. Sementara itu, pemisahan molekul organik dengan menggunakan metode elektroforesis akan bergerak kedalam medan listrik karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, *buffer*, konsentrasi gel, komposisi, ukuran, bentuk, kuat medan listrik, dan besar muatan dari molekul tersebut (Fuad, Ulfan, and Kurniawan, 2016; Rabindra and Raju, 2012). Prinsip elektroforesis yaitu molekul akan bergerak menuju elektroda yang memiliki arah berlawanan karena terjadi fenomena tarik-menarik elektrostatik. Hasil dari elektroforesis tersebut dapat dilihat adanya pita atau *band* yang merupakan fragmen DNA dengan bantuan sinar UV seperti *Bio-Rad UV Transilluminator*

GelDoc (Lee, P. Y., Costumbrado, J., Chih-Yuan, H., and Yong, 2012).



Gambar 2.1 Metode elektroforesis (DeHorta, 2020)

d. Sequencing

Sequencing DNA merupakan proses penentuan urutan nukleotida (adenin, sitosin, guanin, dan timin) pada suatu molekul DNA. Urutan nukleotida pada molekul DNA disebut sebagai sekuens DNA yang mengkode informasi penting suatu gen atau genom pada makhluk hidup untuk dapat berkembang biak. Oleh karena itu, sekuensing DNA memiliki beberapa manfaat seperti dapat menentukan identitas, taksonomi, filogeni, fungsi gen, dapat memperkirakan jarak keragaman antar suatu spesies, dan dapat membandingkan sekuens DNA satu dengan sekuens DNA lainnya yang sudah teridentifikasi. Prinsip sekuensing DNA yaitu menggunakan metode

Sequensing (metode *Maxam-gilbert*, *sanger*, dan *Dye terminator*) dengan memanfaatkan teknik PCR (Hartatik, 2021; Yamani *et al.*, 2022). Berikut metode sekuensing:

1) Metode *Maxam-gilbert*

Metode *Maxam-gilbert* merupakan metode sekuensing pertama yang ditemukan pada tahun 1970 oleh Allan M. Maxam dan Walter Gilbert. Metode ini memiliki keunggulan yaitu dapat langsung menggunakan DNA dari hasil pemurnian. Selain itu terdapat kelemahan pada metode ini yaitu teknik yang digunakan cukup rumit dan menggunakan bahan kimia berbahaya (Hartatik, 2021).

2) Metode *sanger*

Metode *sanger* menerapkan prinsip amplifikasi dengan menggunakan DNA template dan primer spesifik berupa dNTPs (*dideoxy-Nucleotide Triphosphate*) yang merupakan pereaksi hasil modifikasi dari dNTPs dengan menghilangkan gugus 3'-OH pada ribose ketika proses pemanjangan untaian DNA berlangsung. Penggunaan dNTPs mengakibatkan hasil akhir berupa sejumlah fragmen DNA menunjukkan

panjang fragmen yang berbeda (Hartatik, 2021; Yamani *et al.*, 2022).

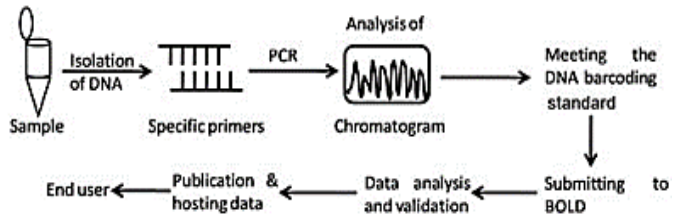
3) Metode sekuensing *dye terminator*

Metode sekuensing *dye terminator* merupakan pelabelan primer dengan melabel pemutus rantainya. Metode ini memiliki keunggulan yaitu proses sekuensing dapat dilakukan dalam satu reaksi, sehingga mempercepat waktu (Hartatik, 2021).

e. Analisis data

Analisis data merupakan proses penentuan hasil akhir *DNA barcoding* dengan menggunakan bantuan software berupa MEGA 11 atau BioEdit (Sunaryo, 2015). Sementara itu, analisis data menggunakan 4 prinsip utama yaitu *Sequence alignment* (penjajaran sekuens DNA), *Sequence trimming* (pemotongan sekuens DNA), *contigs* (DNA tumpang tindih), dan publikasi data yang dihasilkan. Biasanya hasil dari analisis tersebut dipublikasikan kedalam database seperti *GenBank* yang berfungsi untuk menyimpan data urutan DNA dari suatu spesies seperti NCBI dan *Barcode of Life Data System* (BOLD) yang berfungsi dalam pengelolaan beberapa data dari suatu spesies seperti data morfologi, sekuens DNA, dan informasi

mengenai rekaman penemuan spesies tersebut. Proses analisis data dapat dilihat pada Gambar 2.6 (Vere *et al.*, 2015).



Gambar 2.2 Analisis data (Purty & Chatterjee, 2016)

Penggunaan teknik *DNA barcoding* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan teknik lainnya yaitu dapat menggunakan sampel dalam jumlah sedikit atau kecil, cepat, dapat digunakan sebagai dokumentasi keragaman dari suatu spesies yang belum dikenal dan belum teridentifikasi, serta dapat mengungkap keragaman pada suatu spesies (Sunaryo, 2015). Sehingga teknik *DNA barcoding* sering digunakan di beberapa bidang karena teknik ini dianggap sangat akurat, relatif lebih murah, dan cepat untuk identifikasi spesies yang relatif sulit jika dilakukan dengan pengamatan secara morfologi (Hubert and Hanner, 2016; Purty and Chatterjee, 2016; Trivedi *et al.*, 2018; Zein dan Prawiladilaga, 2013). Sementara itu, hasil *DNA barcoding*

dapat digunakan untuk merekonstruksi pohon filogenetik untuk dapat mengetahui keragaman dan kedekatan dari suatu spesies (Vere *et al.*, 2015).

5. Sekuens DNA

Karakterisasi molekuler dalam penelitian ini menggunakan 2 gen penanda atau sekuens bersifat spesifik yang dapat melibatkan sekuen dari DNA inti dan DNA kloroplas untuk dapat membedakan spesies. Tujuan penggunaan 2 sekuens molekuler tersebut yaitu untuk mengidentifikasi sekuen yang memiliki potensi sebagai *Barcode* pada *D. macrantha*. Pada penelitian ini sekuen DNA yang akan digunakan yaitu sekuen *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit (rbcL)* dan *Internal Transcribed Spacer (ITS)*. Sekuen *rbcL* disarankan oleh beberapa peneliti untuk digunakan sebagai sekuen perbandingan dengan sekuen lain karena berdasarkan beberapa penelitian terdahulu yang menggunakan sekuen tersebut menunjukkan hasil lebih baik dibandingkan sekuen lainnya. Sementara itu, sekuen *rbcL* dijadikan sebagai sekuen acuan dalam penyelidikan mengenai hubungan filogenetik dengan menyediakan penempatan atau posisi takson ke dalam famili, genus, atau spesies tanaman dengan tingkat keberhasilan sangat tinggi sebesar 92,7%. Namun sekuen *rbcL* memiliki kekurangan

yaitu hasil variasi sedikit pada tingkat spesies. Sehingga perlunya penggabungan sekuen *rbcL* dengan sekuens lain untuk menunjukkan hasil yang maksimal dalam membedakan spesies tanaman pada hubungan filogenetik (Kress & Erickson, 2007).

Sekuen ITS merupakan sekuen yang menunjukkan hasil tinggi pada variasi tingkat spesies dan tingkat keberhasilan yang dihasilkan relatif tinggi. Sehingga sekuen ini dapat digabungkan dengan sekuen lainnya. Menurut CBOL (2009) kombinasi dua sekuen dapat menunjukkan tingkat keberhasilan PCR sangat tinggi yang digunakan untuk hubungan filogenetik. Kombinasi kedua sekuen (ITS dan *rbcL*) pada tingkat keberhasilan PCR menunjukkan sebanyak 100% (96/96). Sedangkan keberhasilan sekuen ITS yang digabungkan dengan sekuen selain *rbcL* tidak menunjukkan tingkatan keberhasilan yang tinggi (Devi *et al.*, 2022; Kress and Erickson, 2007).

a. *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit*

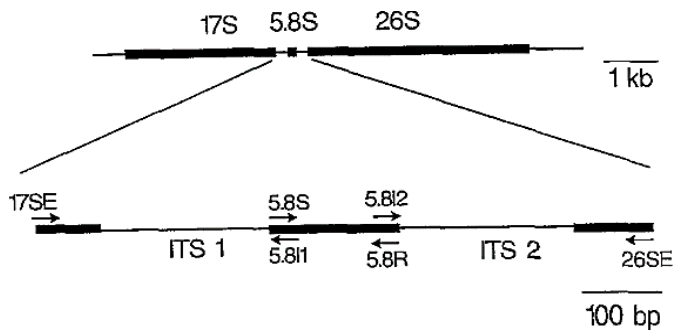
Sekuen *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit* (*rbcL*) merupakan gen yang berasal dari genom kloroplas dan memiliki akumulasi beberapa data pembandingan dari genom tersebut. Selain itu *rbcL* memiliki ukuran lokus panjang berkisar ≥ 1400 bp

dengan tingkat amplifikasi tinggi dan salah satu sekuen dengan tingkat mutasi nukleotida rendah dibandingkan dengan sekuen lainnya, sehingga kemampuan untuk dapat berevolusi menjadi lambat dan dapat memberikan informasi filogenetik yang berkaitan dengan tumbuhan, khususnya pada tingkat taksonomi menengah dan tinggi (Board, 2013; Chetia *et al.*, 2016).

b. *Internal Transcribed Spacer*

Sekuen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan gen yang berasal dari genom inti. Sekuen ITS biasanya memiliki salinan pada genom inti sebanyak 30.000/sel dan memiliki panjang berkisar 600-700 bp. Sementara itu, sekuen ITS dapat mengalami mutasi yang akan mengakibatkan variasi antar spesies. Sekuen ITS memiliki 2 wilayah yaitu ITS1 terletak diantara subunit kecil berkisar 16s-18s serta 5.8S rRNA dan ITS2 terletak diantara subunit besar berkisar 25s-28s serta 5.8s rRNA yang dapat dilihat pada Gambar 2.7. Kedua wilayah tersebut digabungkan dengan subunit 5.8s secara bersama disebut dengan sekuen ITS (Singh and Vijai, 2016). Oleh karena itu, dalam penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi morfologi dan *DNA barcoding*

menggunakan sekuen *rbcL* dan ITS guna kelengkapan data yang disimpan didalam sistem database seperti *GenBank* atau BOLD.



Gambar 2.3 Region ITS1 dan ITS2 (Sun *et al.*, 1994)

B. Pemanfaatan Buah dalam Perspektif Islam

Keunggulan *D. macrantha* sebagai tumbuhan buah lokal memiliki potensi sangat besar yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan oleh masyarakat (Aprilianti, 2019). Keunggulan tersebut merupakan tanda kebesaran dari Allah SWT atas ciptaannya agar masyarakat dapat berpikir. Hal ini, sesuai dengan firman Allah SWT yang tercantum di dalam Al-Quran Surat An-Nahl ayat 11 yang menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan bermacam buah-buahan dengan beberapa manfaat untuk dapat digunakan, berikut Surat An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ
لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ۝ ۱۱

Artinya: Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untukmu tumbuhan-tumbuhan, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir (Q. S. An-Nahl ayat 11:16) (Departemen Agama RI, 2011).

Ibnu Katsir menyatakan bahwa ayat An-Nahl ayat 11 memberikan pedoman agar manusia dapat berpikir atas ciptaan dari Allah SWT. Ciptaan Allah SWT di sini maksudnya tanda-tanda kebesaran-Nya. Pertama Allah SWT memberikan hujan agar tanaman tumbuh dan menghasilkan buah yang dapat memenuhi kebutuhan hidup manusia. Dari jenis rumput-rumputan manusia dapat memberikan bahan makanan bagi ternak, zaitun diproses untuk memperoleh minyak yang dapat digunakan untuk tubuh, dan dari anggur atau kurma dapat dimanfaatkan sebagai penambahan gizi makanan bagi manusia. Kedua disebutkan pada ayat An-Nahl ayat 11 mengenai buah-buahan dan air agar manusia mengetahui kekuasaan-Nya yang tidak terhingga. Air berfungsi untuk menumbuhkan buah-buahan dengan beraneka bentuk, warna, dan rasa yang dapat menghasilkan bahan guna

untuk memenuhi kebutuhan hidup manusia. Terdapat satu hal menarik yaitu mengenai biji-bijian dengan memiliki bentuk hampir sama, namun dapat menghasilkan tumbuhan beraneka ragam. Hal tersebut dikaitkan dengan sang pencipta bersifat Maha Sempurna yang tidak dapat ditandingkan oleh zat-zat lainnya. Sehingga manusia tidak patut menyembah selain pencipta-Nya (Departemen Agama RI, 2011; Ar-Rifa'i, 2000).

C. Kajian Penelitian yang Relevan

Berdasarkan dari beberapa penelitian yang telah dilaksanakan oleh peneliti sebelumnya mengenai morfologi dan *DNA barcoding* terhadap marga *Durio* spp. dengan menggunakan metode dan tujuan yang berbeda-beda. Berikut beberapa penelitian terdahulu mengenai morfologi:

1. Pada penelitian Kostermans (1958) yang bertujuan untuk mengkarakterisasi morfologi buah durian di Indonesia. Penelitian tersebut menunjukkan terdapat 27 spesies buah durian di Indonesia seperti *Durio adans*, *Durio excelsus*, *Durio lowianus*, dll.
2. Penelitian Pratiwi (2009) bertujuan untuk mengidentifikasi adanya variasi morfologi pada *Durio zibethinus* Murr di Kecamatan Tigalingga dan Pegagan Hilir, Sumatra Utara. Variasi morfologi tersebut diduga

mengakibatkan perbedaan pada bagian bentuk buah, bentuk biji, bentuk daun, dan bentuk percabangan pohon. Sementara itu, terjadinya variasi disebabkan karena beberapa faktor seperti ketinggian tempat penanaman dari permukaan laut dan petani di daerah tersebut melakukan perbanyakan biji yang menyebabkan variasi.

3. Penelitian Susilawati dan Sabran (2018) bertujuan untuk mengkarakterisasi morfologi *Durio zibethinus* lokal yang terdapat di Kabupaten Katingan. Karakterisasi tersebut perlu dilakukan karena masyarakat atau petani di Kabupaten Katingan hanya membedakan durian lokal berdasarkan parameter morfologi umum seperti warna kulit, bentuk duri, rasa, aroma, bentuk buah, dan ukuran buah. Oleh karena itu karakterisasi morfologi dianggap sebagai teknik yang tepat untuk memecahkan permasalahan tersebut secara mudah serta dapat melihat perbedaan tanaman yang didasarkan pada karakter morfologi. Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan tanaman dengan menggunakan parameter morfologi lengkap.

Berdasarkan tiga penelitian mengenai karakterisasi morfologi *Durio zibethinus* yang telah dijelaskan, terdapat juga beberapa penelitian mengenai karakterisasi menggunakan

DNA barcoding. Berikut penelitian terdahulu mengenai *DNA barcoding*:

1. Pada penelitian Sundari (2019) bertujuan untuk mengidentifikasi dan membedakan spesies durian lokal dari Maluku Utara. Dengan menggunakan teknik *DNA barcoding* menunjukkan 20 durian lokal yang berada di daerah tersebut dibagi menjadi 3 kelompok spesies durian berdasarkan marga *Durio* spp. (*Durio zibethinus*, *Durio graveolens*, dan *Durio dulcis*). Selain itu penggunaan teknik *DNA barcoding* dianggap lebih efisien pada penelitian ini karena jumlah sampel yang relatif banyak. Dalam penelitian ini menggunakan 3 sekuen (ITS, *matK*, dan *trnL*), dari ketiga sekuen tersebut sekuen ITS menunjukkan hasil yang efektif dalam membedakan spesies durian lokal dari Maluku Utara karena menggunakan coding region DNA inti.
2. Penelitian Mursyidin (2022) bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan antar kultivar unggul dari spesies *D. zibethinus* (Likol, Sahang, dan Si Japang) dari Kalimantan Selatan. Penelitian ini dilakukan dengan metode *DNA barcoding* menggunakan sekuen *rbcl* yang dianggap memiliki tingkat amplifikasi tinggi. Hasil dari *DNA barcoding* dianalisis menggunakan aplikasi MEGA-X dengan merekonstruksi pohon filogenetik menggunakan

dua pendekatan yaitu maximum likelihood dan neighbor-joining. Hasil akhir dalam penelitian ini menunjukkan keragaman genetik yang rendah. Namun, untuk hubungan antar kultivar memiliki keunikan yaitu durian si jampang dan sahang memiliki kedekatan dengan kultivar T16 dari Malaysia, sedangkan durian likol memiliki kedekatan dengan kultivar Monthong dari Thailand.

Berdasarkan beberapa penelitian yang diperoleh menunjukkan hasil karakterisasi mengenai morfologi dan *DNA barcoding* beberapa spesies dari marga *Durio* spp., seperti *D. zibethinus*, *D. graveolens*, dan *D. dulcis*. Hasil tersebut telah terdeposit di database seperti *GenBank* (NCBI), BOLD, dan sistem penyimpanan data lainnya yang berfungsi untuk menyimpan atau pengolahan data urutan DNA dan morfologi dari suatu spesies, serta digunakan sebagai pusat informasi mengenai rekaman penemuan spesies tersebut (Vere *et al.*, 2015). Namun, terdapat beberapa data dari spesies buah durian yang belum terdeposit di database. Salah satunya spesies *D. macrantha*. Oleh karena itu, perlunya penelitian mengenai karakterisasi morfologi dan *DNA barcoding* spesies tersebut. Sehingga dapat digunakan sebagai pemenuh kelengkapan data dan dapat dijadikan data acuan. Sementara itu, penelitian ini menunjukkan kebaruan (*Novelty*) dengan penelitian sebelumnya yaitu menunjukkan kontribusi hasil

penelitian dari spesies *D. macrantha* yang diperoleh bagi masyarakat umum maupun kemajuan dalam ilmu pengetahuan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengamatan morfologi dan pengambilan sampel dilaksanakan di Kebun Raya Bogor pada Vak XIX.F. Analisis morfologi dan molekuler dilaksanakan di Laboratorium Molekuler Kebun Raya Bogor, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Bogor, Jawa Barat pada bulan Desember 2022 - Januari 2023. Sedangkan analisis data dilaksanakan pada bulan Februari - Maret 2023 di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aluminium foil, alat tulis, botol reagen, Erlenmeyer 125 ml (*Pyrex*), *Freezer (Sanyo)*, *refrigerator centrifuge*, gelas beker (*Pyrex*), gel doc (*BIO-RAD EZ imager*), gelas ukur (*Pyrex*), gunting, *heat block (VWR-Digital Heat blok)*, *ice maker*, komponen elektroforesis (*Mupid*), computer (*LG*), kulkas (*LG*), mikropipet (*Eppendorf* ukuran 2,5 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, dan 1000 μ l), mikrotube, *microwave (Sharp)*, mikroskop digital (*Dino-Lite*), mortar serta alu, PCR (*Takara*), rak mikrotube (*Axygen* ukuran 0,2 ml, 1,5 ml,

dan 2 ml), RHS Color Chart, centrifuge (Thermo Electron Corporation), spatula, spin down centrifuge (Tomy dan EMS-Myfuge), spincolumn, tip (putih, kuning, biru) (onemed), timbangan analitik (Precisa-XT 220 A), tube, UV Tray, vortex (VWR-Digital Vospin downrtex Mixer), glove, dan wadah.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel segar daun *D. macrantha* yang dapat dilihat pada Tabel 3.1, alkohol 70%, aquades (*distilled water*), Buffer Tris-acetate EDTA (TAE) 1X, kit GeneJET (K0791), ddH₂O (*deionized water*), dNTPs, DNA Ladder 1 kb (Geneaid), gel agarose konsentrasi 1% (Vivantis), GelRed™ Nucleic Acid 10,000× In Water (Biotium). isopropanol, klorofom, PCR Mix MayTaq™ HS Red (Meridian Bioscience), serta primer *rbcL* (Forward dan Reverse) dan primer ITS (Forward dan Reverse).

Tabel 3.1 Sampel *Durio macrantha*

No.	Nama Tumbuhan	Kode Sampel	Lokasi Tumbuhan	Asal Koleksi
1.	<i>Durio macrantha</i> Kosterm.	86 a	XIX.F.86a.	Sumatra: Aceh
2.	<i>Durio macrantha</i> Kosterm.	86 b	XIX.F.86b.	Sumatra: Aceh

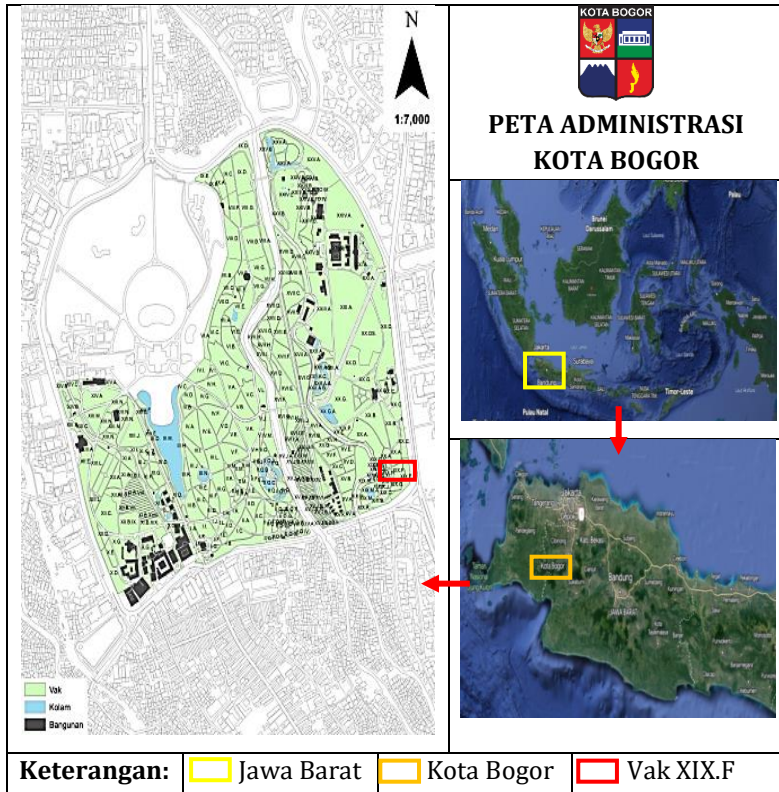
C. Prosedur Kerja

1. Pengamatan Morfologi

a. Pengambilan sampel *Durio macrantha*

Sampel daun diambil dari dua spesimen koleksi hidup fase remaja yang berumur 28 tahun di vak XIX.F.86a. dan XIX.F.86b. Sebelum dilakukan pengambilan sampel, terlebih dahulu melaksanakan pengecekan data yang tersimpan di buku katalog Kebun Raya Bogor untuk mengetahui lokasi spesimen yang dapat dilihat pada Gambar 3.1. Sampel diambil sebanyak 10 daun dengan beberapa kriteria yang perlu diamati yaitu pilih bagian yang tidak terkena hama atau tidak terjadi kerusakan (berlubang atau sobek). Sampel yang diperoleh diberi label keterangan atau label gantung (kode tanaman, nama tumbuhan, tanggal pengambilan sampel, dan nomor vak) dan informasi penting ditulis pada buku. Sampel yang telah diberi keterangan dimasukkan kedalam plastik dengan membagi sampel menjadi dua bagian yaitu sampel pengamatan DNA dan sampel pengamatan morfologi. Sampel dibawa menuju ke Laboratorium Molekuler untuk dilakukan pengamatan secara morfologi dan molekuler. Sampel daun dapat disimpan di dalam *Freezer*.

PETA LOKASI PENELITIAN



Gambar 3.1 Peta lokasi spesimen vak XIX.F

b. Pengamatan morfologi

Pengamatan morfologi dilaksanakan secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan beberapa parameter yang diamati pada sampel *D. macrantha* segar. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini berupa

karakter morfologi dari *D. macrantha* fase vegetatif dengan menggunakan buku acuan dari Corpuz, T. A., *et al.* (2007) "*Descriptors for Durian (Durio zibethinus Murr.)*" serta didukung oleh studi literatur. Parameter yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 2.

c. Pengamatan urat, pola venasi, dan pola *veinlets* daun

Daun *D. macrantha* diletakan dibawah mikroskop digital dan diatur perbesarannya sampai terlihat jelas urat atau pola venasi daun untuk mempermudah pengamatan. Hasil pengamatan yang diperoleh dapat di dokumentasikan menggunakan perangkat komputer yang terhubung dengan mikroskop digital. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada buku karangan Ellis *et al.*, (2009) "*Manual of Leaf Architecture*" dan Hickey, L. J. (1973) "*Classification of the Architecture of Dicotyledonous Leaves*". Parameter yang digunakan berupa karakter bentuk urat, pola venasi dan pola *veinlets* daun *D. macrantha*.

d. Pengamatan trikoma pada daun *Durio macrantha*

Daun *D. macrantha* bagian abaksial diletakan dibawah mikroskop digital untuk memastikan jenis bentuk trikoma yang diamati. Daun dipotong pada bagian tengah menjadi kecil-kecil ukuran 1-2 cm. Selanjutnya daun diletakan di cawan petri dan bagian permukaan

adaksial yang telah dilakukan pengamatan sebelumnya dikerok halus dengan menggunakan pinset. Cawan petri yang berisi serbuk diletakan dibawah mikroskop digital untuk dilakukan pengamatan karakteristik trikoma. Hasil pengamatan dapat didokumentasikan dengan menggunakan mikroskop digital yang telah dihubungkan dengan perangkat komputer. Parameter penelitian ini dengan menggunakan jurnal acuan dari Salma (1999) "*The Taxonomic Significance of Trichome Morphology in the Genus Durio (Bombaceae)*". Parameter yang diamati yaitu panjang (mm), lebar (mm) dan pangjang lengan (mm) trikoma.

2. Pengamatan Molekuler

a. Penggerusan sampel

Daun *D. macrantha* segar diambil sebanyak 1 helai. Kemudian daun di semprot menggunakan alkohol agar hama atau mikroba yang terdapat pada daun tidak mengkontaminasi DNA dari daun. Helai daun *D. macrantha* (kecuali tangkai daun) dipotong menjadi bagian yang lebih kecil. Sampel yang telah dipotong dihaluskan menggunakan mortar dan alu. Sampel yang telah halus (bubuk) dimasukan ke dalam tube ukuran 1,5 ml dan diberi keterangan berupa kode sampel.

b. Isolasi DNA

DNA diekstraksi dari sampel segar jaringan daun fase remaja dengan menggunakan metode berbasis kit. Sebelum melakukan proses ekstraksi tube yang berisi sampel diletakan secara sejajar pada rak mikrotube. Proses ekstraksi menggunakan *GeneJET Plant Genomic DNA KIT* (K0791). Sebanyak 500 μL *Lysis buffer A* dimasukkan kedalam tube ukuran 1,5 ml. Selanjutnya sebanyak 50 μL *Lysis buffer B*, dan 20 μL RNase A dimasukkan kedalam tube ukuran 1,5 ml. Larutan sampel yang terdapat di dalam tube divortex selama 30 detik, tujuannya agar larutan di dalam tube tercampur dengan baik. Campuran sampel diinkubasi menggunakan *heat block* selama 10 menit pada suhu 65 °C, pada tahap tersebut dilakukan *inverting/shake* setiap sampel. Sebanyak 130 μL *Precipitation solution* ditambahkan kedalam tube sampel dan dilakukan *inverting/shake* kembali sebanyak 2-3 kali. Campuran sampel diinkubasi selama 5 menit di dalam *freezer*. Kemudian campuran sampel disentrifugasi selama 5 menit pada 13.000 x g. Pada proses sentrifugasi, sampel akan mengalami dua fase utama yaitu fase padat dengan bentuk pellet dan fase cair yang didalamnya berisi supernatan.

Supernatan yang terdapat pada sampel diambil sebanyak 450 μL menggunakan mikropipet dan dipindahkan kedalam tube ukuran 1,5 ml. Sebanyak 400 μL *Plant gDNA Binding Solution* ditambahkan dan 400 μL etanol 96% kedalam tube yang berisi supernatan. Campuran larutan tersebut dilakukan *inverting/shake* pada setiap sampel. Campuran larutan diambil sebanyak 600 μL untuk dipindahkan kedalam *spin column*. Larutan yang terdapat di *spin column* disentrifugasi selama 1 menit pada 6.000 x g. Filtrat yang terdapat pada *spin column* bagian bawah dibuang. Dilakukan pengulangan sampai larutan yang terdapat didalam tube habis. Selanjutnya *spin column* diletakan sejajar untuk dilakukan pembilasan.

Proses pembilasan menggunakan *Wash Buffer I* dimasukan kedalam column sebanyak 500 μL dan disentrifugasi selama 1 menit pada 8.000 x g. Larutan yang terdapat dibawah *spin column* dibuang. Sebanyak 500 μL *Wash Buffer II* dimasukan kedalam column dan disentrifugasi selama 3 menit pada 13.000 x g. Dilakukan sentrifugasi kembali selama 1 menit pada 13.000 x g. Larutan yang terdapat dibawah *spin column* dibuang dan *column* dipindahkan kedalam tube baru ukuran 1,5 ml yang telah diberi keterangan berupa kode sampel. Sebanyak 50 μL *Elution Buffer* ditambahkan kedalam

bagian tengah column. Selanjutnya diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang dan disentrifugasi selama 1 menit pada $8.000 \times g$. Dilakukan pengulangan penambahan *Elution Buffer* sebanyak $50 \mu\text{L}$ kedalam column dan column yang telah digunakan dibuang. Tube yang berisi sampel DNA dapat disimpan di *freezer* pada suhu $-20 \text{ }^\circ\text{C}$.

c. Visualisasi isolasi DNA *Durio macrantha*

Sebanyak $0,6 \text{ Loading dye}$ diambil dan di campur dengan DNA hasil isolasi sebanyak $4 \mu\text{L}$ menggunakan mikropipet. Campuran DNA dengan *loading dye* dimasukan kedalam sumuran gel *agarose* 1% kedua dari sebelah kiri menggunakan mikropipet. Sebanyak $4 \mu\text{L}$ DNA *leader* dimasukan kedalam sumuran pertama dari sebelah kiri menggunakan mikropipet.

d. Amplifikasi sekuen *rbcL* dan sekuen ITS

Amplifikasi menggunakan campuran larutan dengan total $50 \mu\text{l}$ yang mengandung komponen PCR Mix *MayTaq* $25 \mu\text{l}$, primer (*forward* dan *reverse*) $5 \mu\text{l}$, *ddH₂O* $14 \mu\text{l}$, dan DNA $6 \mu\text{l}$ yang dapat dilihat pada Tabel 3.2. Campuran larutan $50 \mu\text{l}$ dimasukan ke dalam mikrotube ukuran $1,5 \text{ mL}$ dengan jumlah volume yang sama pada setiap mikrotube. Seluruh mikrotube yang berisi campuran bahan dimasukan kedalam *spin down centrifuge* agar dapat memisahkan sampel dengan optimal.

Parameter amplifikasi PCR yang digunakan pada *Thermal Cycler PCR Takara* untuk sekuen *rbcl* (pra-denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit; denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik; annealing pada suhu 52 °C selama 15 detik; ekstensi pada suhu 72 °C selama 10 detik; post-ektensi pada suhu 72 °C selama 4 menit) sebanyak 35 siklus dan sekuen ITS (pra-denaturasi pada suhu 95 °C selama 3 menit; denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 detik; annealing pada suhu 58 °C selama 15 detik; ekstensi pada suhu 72 °C selama 15 detik; post-ektensi pada suhu 72 °C selama 5 menit) sebanyak 35 siklus. Tahap terminasi atau penyimpanan yang berlangsung dalam kurun waktu tidak terbatas, sehingga ketika proses amplifikasi PCR selesai suhu didalamnya masih tetap stabil, sehingga sampel tetap terjaga (Kress and Erickson, 2007; Hariri *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 1994).

Tabel 3.2 Sekuen *rbcl* dan ITS

Primer	Sekuen (5'-3')	Suhu annealing (C°)	Referensi
<i>rbcl</i> aF	ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC	52	Kress and Erickson, 2007

Tabel 3.2 Lanjutan

Primer	Sekuen (5'-3')	Suhu annealing (C°)	Referensi
<i>rbcL</i> aR	GTA AAA TCA AGT CCA CCR CG		
AB101F	ACG AAT TCA TGG TCC GGT GAA GTG TTC G	58	Sun <i>et al.</i> , 1994
AB102R	TAG AAT TCC CCG GTT CGC TCC CCG TTA C		

e. Elektroforesis

Tahap elektroforesis membutuhkan gel *agarose* konsentrasi 1%. Sebanyak 0,8 g bubuk *agarose* ditimbang menggunakan neraca analitik. Gel *agarose* dimasukan kedalam erlenmeyer ukuran 125 ml menggunakan spatula dan sebanyak 80 ml TAE 1x ditambahkan kedalam erlenmeyer, serta ditutup menggunakan alumunium foil berlubang. Tujuan penutupan dengan alumunium foil berlubang yaitu ketika proses pemanasan akan membentuk uap yang akan keluar melalui lubang, jika uap mengendap didalam maka akan mengakibatkan meledak. Erlenmeyer yang berisi caampuran gel *agarose* dengan

TAE dipanaskan dengan menggunakan oven selama 1 menit dan diamati gel *agarose* yang terdapat di dalam erlenmeyer sampai larut. Erlenmeyer di diamkan pada suhu ruang selama 20 detik. Sebanyak 1 μ l gel red ditambahkan dengan menggunakan mikropipet ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Gel *agarose* dituang kedalam cetakan komponen elektroforesis yang sudah dipersiapkan. Proses penuangan dilakukan dengan menuang pada bagian titik yang sama agar hasil gel *agarose* merata. Gel *agarose* ditunggu selama 30 menit atau sampai teksturnya padat. Sisir elektroforesis diambil dan gel *agarose* dimasukkan kedalam bak elektroforesis berisi larutan TAE 1x.

Sebanyak 4 μ l DNA *ladder* 1 kb dimasukkan pada sumuran pertama yang berada di ujung kiri dengan menggunakan bantuan mikropipet. Sebanyak 5 μ l produk PCR dan dimasukkan mulai sumuran kedua. Mesin elektroforesis ditutup dan diatur dengan tegangan sebesar 100 Volt selama 45 menit. Visualisasi pita DNA menggunakan sinar UV *B GelDoc™ EZ Imager Bio-Rad* panjang gelombang 302 nm dengan memasukkan agar kedalam *UV-Tray* dan mengatur posisi yang diinginkan, serta didokumentasikan. Pembacaan ukuran fragmen DNA dapat ditentukan dengan membandingkan pita DNA

yang diperoleh dari sampel tumbuhan *D. macrantha* terhadap penanda standar 1 kb DNA yang digunakan berdasarkan protokol *Geneaid* (DL006).

f. Sequencing DNA

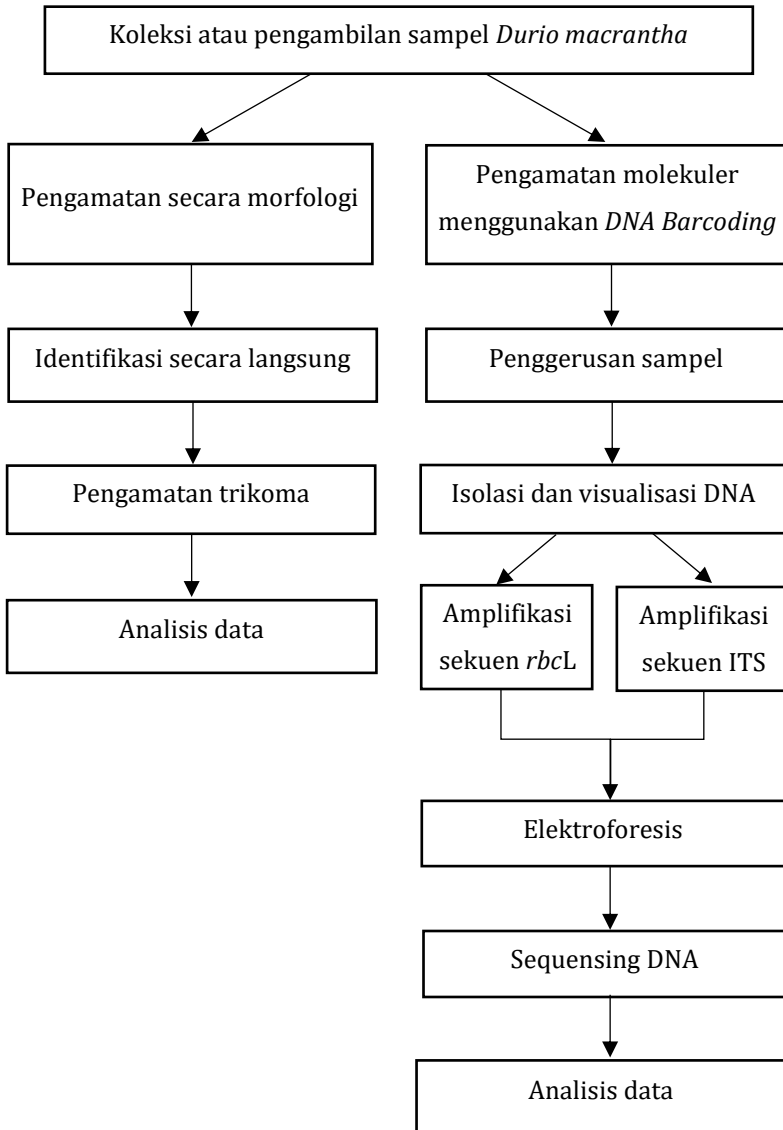
Sequencing DNA dilaksanakan oleh *1st Base* Malaysia, dengan mengirimkan sampel melalui jasa PT. Genetika Science Indonesia menggunakan metode sequencing *sanger*.

g. Analisis Data

Hasil DNA sequencing yang diperoleh dalam format AB1 dianalisis menggunakan aplikasi MEGA 11 dengan metode *contig* menggunakan *ClustalW* yang bertujuan untuk persejajaran sejumlah urutan nukleotida. Hasil persejajaran disandingkan dan dilakukan pengecekan dengan data yang telah tersedia di *GenBank* (NCBI) menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) yang bertujuan untuk dapat menentukan tingkat homologi (kemiripan). Jika tingkat homologi sebesar 80-100% maka menunjukkan bahwa spesies yang ditemukan memiliki hubungan yang berdekatan (Aprilianingsih, Baiq, dan Muhammad, 2022; Erwyansyah *et al.*, 2018). Dua sekuen hasil BLAST yang memiliki tingkat kedekatan paling tinggi digunakan untuk analisis *Multiple Alignment* menggunakan web *MultAlin*.

Sebanyak 8 sekuens *rbcL Durio* dan sebanyak 18 sekuen ITS *Durio* yang muncul dari hasil BLAST diunduh untuk digunakan dalam membangun pohon filogenetik. Sebanyak satu sekuen *Theobroma cacao* diunduh untuk diperlakukan sebagai outgroup karena berasal dari satu *family* yang memiliki jumlah data sekuen yang relatif banyak. Pembuatan pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan parameter *Kimura-2* (K2) untuk sekuen *rbcL* dan parameter *Tamura-3* (T92) untuk sekuen ITS. Penggunaan parameter tersebut bertujuan untuk menghitung jarak evolusi spesies tersebut dengan 1000 *bootstrap* (Devi *et al.*, 2022; Kimura, 1980; Tamura, 1992).

D. Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Karakterisasi Morfologi *Durio macrantha*

a. Hasil karakterisasi morfologi

Hasil pengamatan terhadap karakter morfologi dua spesimen *D. macrantha* koleksi KRB fase vegetatif (86 a dan 86 b) yaitu pada bagian daun dan pohon menunjukkan beberapa karakter yang sama dan terdapat adanya perbedaan. Persamaan dan perbedaan karakter morfologi tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1. Persamaan karakter pada morfologi *D. macrantha* 86 a dan 86 b yaitu bagian daun memiliki dua warna yang berbeda pada permukaan atas dan bawah, susunan daun berselang-seling, terdapat swollen pada bagian tangkai, tekstur permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang lurus dengan arah percabangan menyebar, dan bentuk tajuk piramida. Sementara itu, terdapat karakter khusus yang membedakan dengan tumbuhan pada genus yaitu adanya trikoma pada bagian bawah daun. Sedangkan untuk perbedaan karakter pada morfologi *D. macrantha* 86 a dan 86 b yaitu terletak pada panjang dan lebar tangkai, daun, swollen, serta tinggi dan lebar pohon yang dapat dilihat

pada Gambar 4.1. Perbedaan tinggi pohon diduga disebabkan oleh faktor lingkungan pada vax XXI.F yang dapat dilihat pada Gambar 4.2

Tabel 4.1 Pengamatan Morfologi *Durio macrantha*

Karakteristik	Sampel <i>Durio macrantha</i>	
	86 a	86 b
Morfologi Daun		
Bentuk bilah daun	Melonjong	Melonjong
Tepi daun	Rata	Rata
Panjang daun (cm)	16,96±1,82	19,79±1,96
Lebar daun (cm)	6,31±0,74	6,33±0,48
Warna daun atas	Moderate olive green (A)	Moderate olive green (A)
Warna daun bawah	Keemasan	Keemasan
Tekstur daun	Tipis	Tipis
Kilapan daun permukaan atas	Mengkilap	Mengkilap
Kilapan daun permukaan bawah	Mengkilap	Mengkilap
Lilin pada daun adaksial	Berkilau	Berkilau
Bentuk ujung daun	Tajam memanjang	Tajam memanjang
Bentuk pangkal daun	Bulat runcing	Bulat runcing
Sikap daun	Terkulai 45°	Terkulai 45°

Tabel 4.1 Lanjutan

Karakteristik	Sampel <i>Durio macrantha</i>	
	86 a	86 b
Susunan daun	Berselang-seling	Berselang-seling
Panjang tangkai daun (mm)	12,94±1,03	16,74±1,10
Lebar tangkai daun (mm)	2,14±0,21	2,34±0,27
Kondisi tangkai	Terdapat swollen	Terdapat swollen
Panjang swollen (mm)	9,29±0,24	13,42±1,09
Lebar swollen (mm)	3,09±0,25	3,06±0,17
Morfologi Batang		
Tinggi pohon (m)	1,4	6,9
Arah percabangan	Menyebarkan	Menyebarkan
Bentuk tajuk	Piramida	Piramida
Warna kulit batang	Abu-abu	Abu-abu
Diameter batang (mm)	42,4	50,2
Tekstur kulit pada permukaan batang	Kasar	Kasar
Kebiasaan pertumbuhan batang	Lurus	Lurus



Gambar 4.1 Tinggi pohon *Durio macrantha* (panah merah untuk penunjuk pohon *Durio macrantha* sampel 86 b) (Dokumentasi penelitian)

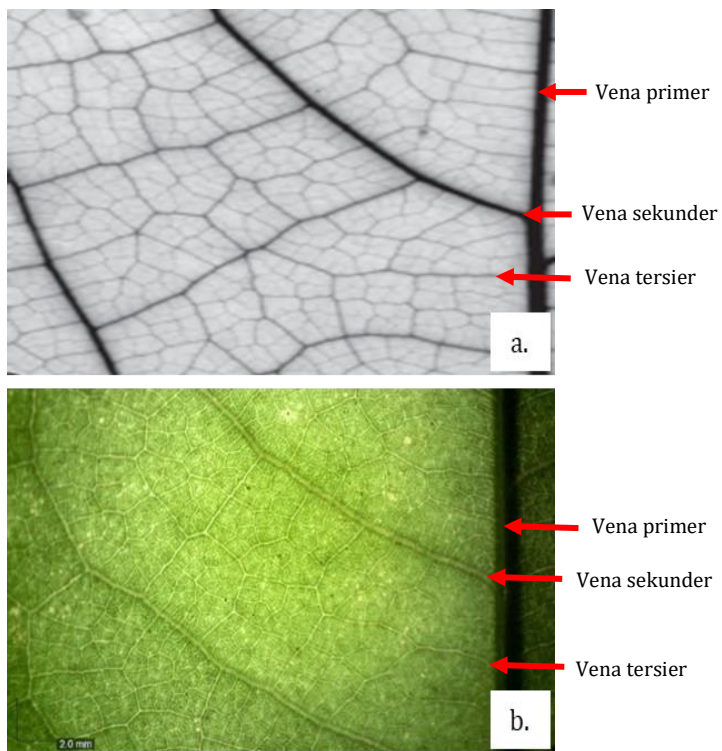


Gambar 4.2 Kondisi lingkungan vak XIX.F (Dokumentasi penelitian)

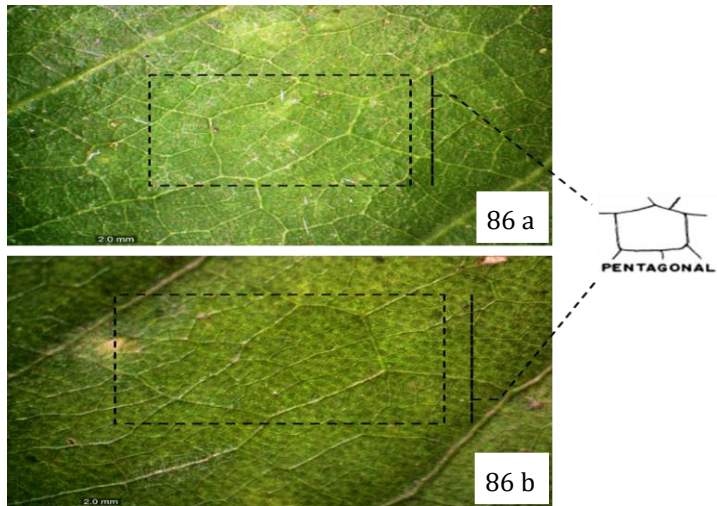
b. Hasil urat, pola venasi, dan pola *veinlets* daun

Karakterisasi pada morfologi daun juga mengamati bagian permukaan daun *D. macrantha* secara mendetail

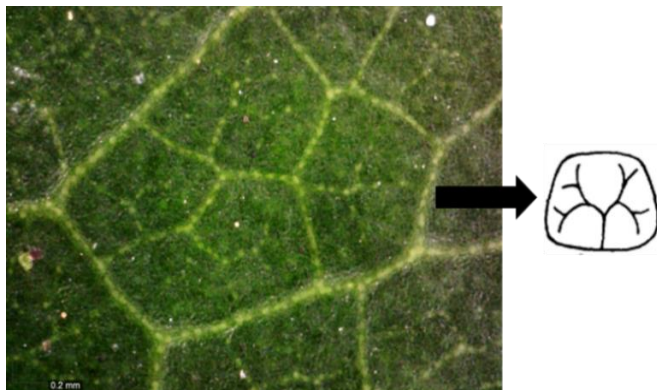
khususnya bagian urat, pola venasi, dan pola *veinlets*. Hasil karakterisasi menunjukkan daun *D. macrantha* (86 a dan 86 b) memiliki tiga urat daun yaitu primer, sekunder, tersier yang dapat dilihat pada Gambar 4.3. Sedangkan untuk pola venasi memiliki bentuk pentagonal (Gambar 4.4) dan pola *veinlets* berbentuk *tri-veinlets* (Gambar 4.5).



Gambar 4.3 Pola vena pada daun *family Malvaceae* (a.) (Ellis *et al.*, 2009) dan daun *Durio macrantha* (b.) (Dokumentasi penelitian)



Gambar 4.4 Pola areola *Durio macrantha*

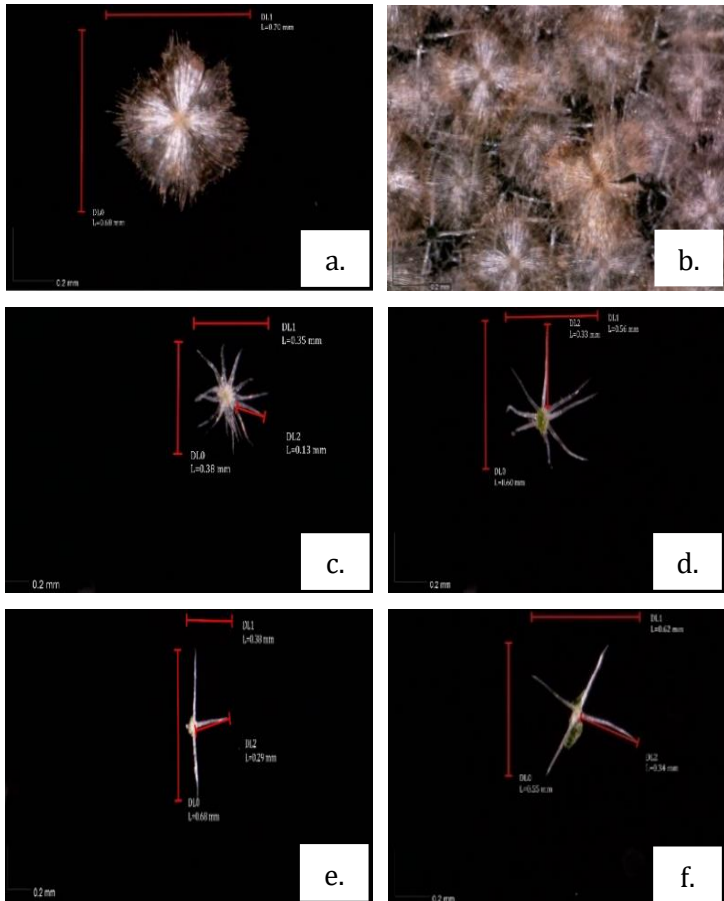


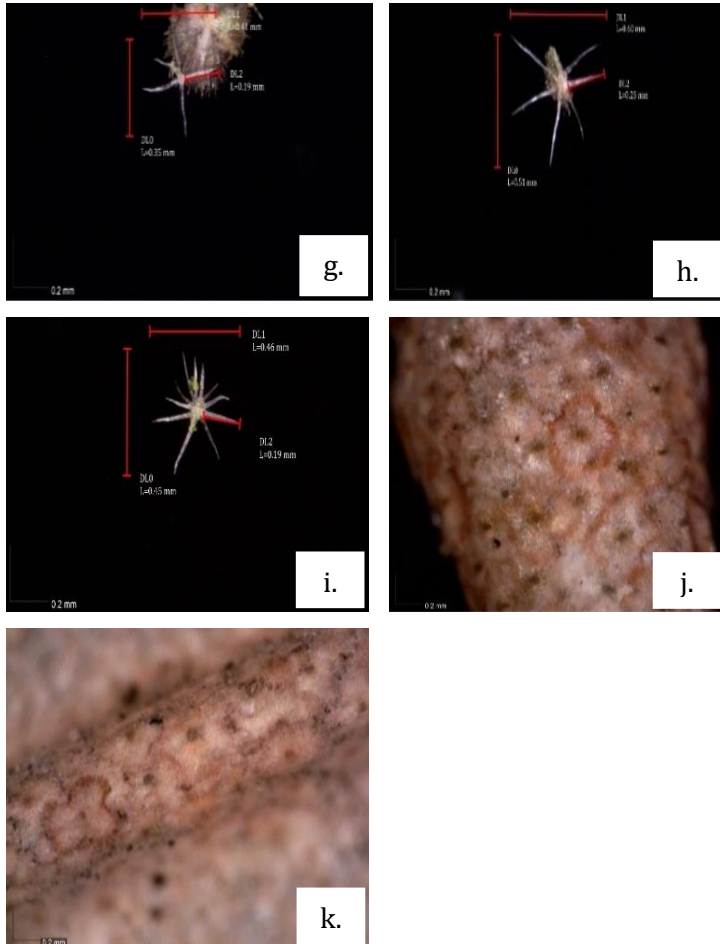
Gambar 4.5 Pola veinlets *Durio macrantha*

c. Hasil trikoma daun *Durio macrantha*

Karakterisasi pada morfologi daun *D. macrantha* yang memiliki karakter khusus yaitu adanya trikoma pada

bagian permukaan bawah daun yang menunjukkan 8 tipe yaitu *complex peltate scale*, *simple peltate scale*, *flat stellate hair*, *three-armed stellate*, *four-armed stellate*, *five-armed stellate*, *seven-armed stellate*, dan *eleven-armed stellate* yang dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Tabel 4.2





Gambar 4.6 Tipe trikoma pada daun *Durio macrantha*

Keterangan: a. *complex peltate scale*; b. kumpulan *complex peltate*; c. *simple peltate scale*; d. *flat stellate hair*; e. *three-armed stellate*; f. *four-armed stellate*; g. *five-armed stellate*; h. *seven-armed stellate*; i. *eleven-armed stellate*; j. trikoma pada swollen; k. trikoma pada tangkai daun

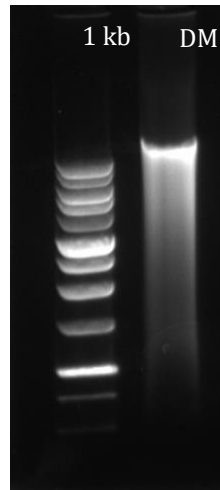
Tabel 4.2. Tipe trikoma pada daun *Durio macrantha*

Bentuk	Panjang (mm)	Lebar (mm)	Panjang Lengan (mm)
<i>Complex peltate scale</i>	0,68	0,70	-
<i>Simple peltate scale</i>	0,38	0,35	0,13
<i>Flat stellate hair</i>	0,60	0,33	0,56
<i>Three-armed stellate</i>	0,68	0,38	0,29
<i>Four-armed stellate</i>	0,55	0,62	0,34
<i>Five-armed stellate</i>	0,35	0,41	0,19
<i>Seven-armed stellate</i>	0,51	0,60	0,23
<i>Eleven-armed stellate</i>	0,45	0,46	0,19

2. Karakterisasi DNA Barcoding

a. Visualisasi DNA *Durio macrantha*

Visualisasi hasil isolasi sampel DNA *D. macrantha* dengan kode sampel DM 86 a menggunakan *GeneJET kit* (K0791) yang dilakukan sesuai dengan protokol menunjukkan pita DNA tebal dan berpendar (tampak jelas). Namun terdapat *smear* pada bagian bawah pita DNA yang dapat dilihat pada Gambar 4.7. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pita DNA sampel DM 86 a yang dihasilkan memiliki kualitas cukup baik.

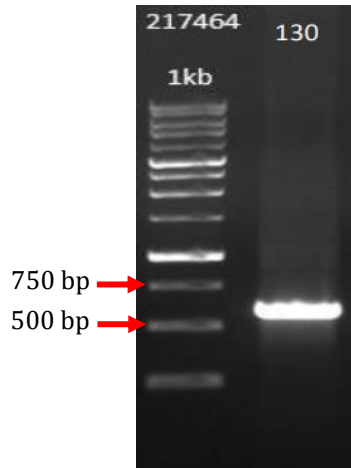


Gambar 4.7 Visualisasi hasil isolasi DNA *Durio macrantha*

b. Karakterisasi Sekuen *rbcL*

1) Amplifikasi DNA *Durio macrantha* sekuen *rbcL*

Amplifikasi hasil isolasi sampel *D. macrantha* DM 86 a menggunakan sekuen *rbcL* menunjukkan pita DNA yang tebal, tunggal, dan berpendar (tampak jelas). Pita DNA target (amplikon) menunjukkan bahwa pita DNA sampel DM 86 a yang dihasilkan teramplifikasi sesuai dengan target daerah *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit* yaitu dalam kisaran panjang 500-750 bp yang dapat dilihat pada Gambar 4.8.

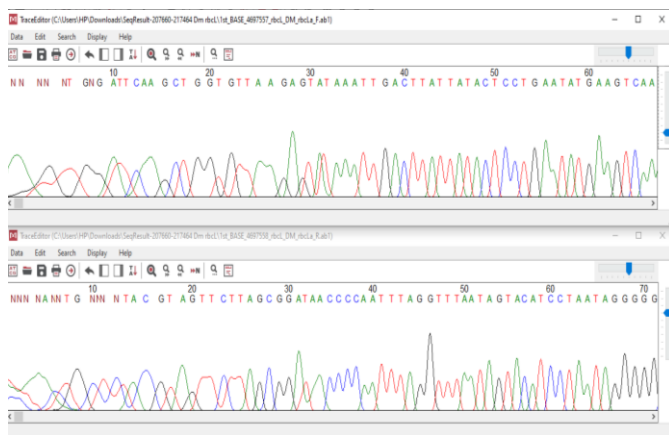


Gambar 4.8 Amplifikasi pita DNA *Durio macrantha* sekuen *rbcl*

2) Elektroforegram sekuen *rbcl*

Data yang akan diolah berasal dari data hasil sekuensing yang diterima dalam format AB1 yang didalamnya terdapat dua file yaitu file primer *forward* dan *reverse* dalam bentuk elektroforegram. Data elektroforegram dilihat berdasarkan lengkungan bukit dan lembah yang masing-masing memiliki 4 warna yang dapat dilihat pada Gambar 4.9. Perbedaan lengkungan warna yang ditunjukkan oleh data elektroforegram disesuaikan dengan jenis nukleotida, seperti warna merah untuk timin (T), warna biru untuk sitosin (C), warna hijau untuk adenin (A), dan warna hitam untuk guanin (G). Data

elektroforegram sampel DM (4697557) sekuen *rbcl* relatif baik karena menunjukkan lengkungan pada elektroforegram membentuk peak cukup sempurna. Namun pada bagian awal dan akhir terdapat lengkungan yang bertumpuk, sehingga wajib dilakukan pemotongan bagian awal dan akhir.



Gambar 4.9 Elektroforegram sekuen *rbcl* (bagian atas *forward* dan bagian bawah *reverse*) Keterangan warna: merah untuk timin (T), warna biru untuk sitosin (C), warna hijau untuk adenin (A), dan warna hitam untuk guanin (G)

3) Hasil BLAST sekuen *rbcl*

Hasil BLAST sampel DM (4697557) pada sekuen *rbcl* yang diperoleh dari NCBI menunjukkan sebanyak 100 spesies yang terdiri dari genus *Malvaceae* (68%)

dan terdapat beberapa anggota genus lain seperti *Heritiera*, *Bombax*, *Tilia*, *Ochorma*, *Pseudobombax*, *Spirotheca*, dan *Frimina* (Lampiran 3). Dua belas spesies dengan *percent identity* dan no aksesori yang berbeda pada satu spesies dipilih untuk dilakukan proses penyejajaran dan rekonstruksi pohon filogenetik yang dapat dilihat pada Tabel 4.3. Pemilihan pada *percent identity* paling tinggi disebabkan karena semakin tinggi nilainya maka tingkat homologi (kemiripan) jauh lebih besar.

Tabel 4.3 Sekuen *rbcL* hasil BLAST

Spesies	Kode Aksesori	ID (%)	Nilai Kueri	Nilai E
<i>Durio</i>	MF139708.1	100,00%	100%	0,0
<i>Zibethinus</i>				
<i>Durio</i>	LC730078.1	100,00%	100%	0,0
<i>Zibethinus</i>				
<i>Durio</i>	MZ479694.1	100,00%	100%	0,0
<i>Zibethinus</i>				
<i>Durio</i>	MZ479692.1	100,00%	100%	0,0
<i>Kutejensis</i>				
<i>Durio</i>	MZ479689.1	100,00%	100%	0,0
<i>Oxleyanus</i>				

Tabel 4.3 Lanjutan

Spesies	Kode Akses	ID (%)	Nilai Kueri	Nilai E
<i>Durio</i>	MZ479687.1	100,00%	100%	0,0
<i>Dulcis</i>				
<i>Durio</i>	MZ479685.1	100,00%	100%	0,0
<i>testudinarius</i>				
<i>Durio</i>	MZ479682.1	99.82%	100%	0,0
<i>Excelcus</i>				

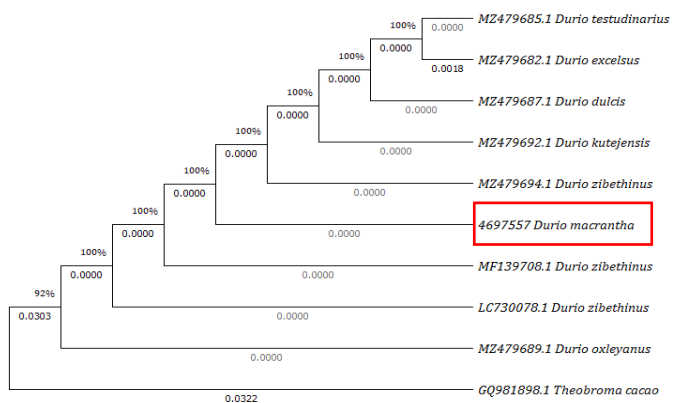
4) *Multiple Aligment* sekuen *rbcl*

Proses *sequence aligment* (penyejajaran) menggunakan sekuen dari hasil BLAST yang memiliki tingkat kedekatan tertinggi dengan sampel DM (4697557) yaitu sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1) dan *D. zibethinus* (MZ479694.1) Penyejajaran dilakukan menggunakan web *MultAlin*. Hasil penyejajaran menggunakan web *MultAlin* dari ketiga sampel menunjukkan tingkat kemiripan sekuen sebesar 100% dan selueruh sekuen *conserved* yang dapat dilihat pada Lampiran 4.

5) Rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcl*

Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor Joining* karena dapat menghasilkan

panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan menstimulasi tingkat variasi dari perubahan evolusi yang terjadi. Sementara itu, rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcL* dengan metode *Neighbor Joining* menggunakan model *Kimura-2* karena dapat mengetahui posisi dan menghitung jarak genetik dari *D. macrantha* terhadap spesies *Durio* lainnya. Hasil rekonstruksi menunjukkan bahwa sekuen sampel DM (4697557) membentuk *clade* sendiri, namun berada dekat posisinya dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1) dengan nilai *bootstrap* 100%. Sementara itu, untuk spesies *D. testudinarius* (MZ479694.1) membentuk *clade* yang sama dengan *D. exelsus* (MZ479682.1) yang dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Pohon filogenetik sekuen *rbcL*

6) Komposisi nukleotida pada sekuen *rbcl*

Komposisi nukleotida digunakan untuk mengetahui tingkat kemiripan suatu spesies berdasarkan laju mutasi dan laju evolusi. Komposisi nukleotida umumnya terdiri dari empat nukleotida seperti Adenin (A), Guanin (G), Timin atau Urasil (T atau U), dan Sitosin (C). Komposisi nukleotida sampel DM (4697557) dibandingkan dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1), *D. zibethinus* (MZ479694.1), dan *D. zibethinus* (LC730078.1) yang merupakan hasil BLAST dengan karakter similaritas tertinggi menunjukkan komposisi nukleotida yang sama yaitu T: 27,9%, C: 21,7%, A: 27,9, G: 22,6 %.

Berdasarkan data komposisi nukleotida 10 sampel yang dapat dilihat pada Tabel 4.4 menunjukkan jumlah rata-rata presentase komposisi nukleotida terbanyak yaitu pada basa T sebesar 28.0% dan A sebesar 27.8%. Sementara itu, untuk komposisi sekuen sampel DM (4697557) memiliki kemiripan dengan komposisi beberapa sekuen yang diperoleh dari hasil BLAST di NCBI seperti sekuen *D. zibethinus*, *D. kutejensis*, *D. oxleyanus*, *D. dulcis*, dan *D. testudinarium*. Namun untuk sekuen *Theobroma cacao* (GQ981898.1) yang digunakan sebagai outgrup

terdapat sedikit perbedaan pada bagian komposisi nukleotida.

Tabel 4.4 Komposisi nukleotida sekuen *rbcl*

Spesies	Komposisi Nukleotida (%)				Total
	T(U)	C	A	G	
<i>Durio macrantha</i> (4697557)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio zibethinus</i> (MF139708.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio zibethinus</i> (MZ479694.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio zibethinus</i> (LC730078.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio kutejensis</i> (MZ479692.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio oxleyanus</i> (MZ479689.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio dulcis</i> (MZ479687.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio testudinarius</i> (MZ479685.1)	27,9	21,7	27,9	22,6	563
<i>Durio excelsus</i> (MZ479682.1)	27,9	21,5	28,1	22,6	563
<i>Theobroma cacao</i> (GQ981898.1)	29,1	22,4	26,6	22,0	519

7) Jarak genetik *Durio macrantha*

Nilai jarak genetik sekuen sampel DM (4697557) dengan sekuen hasil BLAST yang sudah dilakukan *alignment* dapat dilihat pada Tabel *pairwise distance* pada Lampiran yang menunjukkan bahwa sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1), *D. zibethinus* (MZ479694.1), dan *D. zibethinus* (LC730078.1) memiliki jarak genetik sangat rendah sebesar 0,000. Sedangkan sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *Theobroma cacao* (GQ981898.1) memiliki jarak genetik yang paling tinggi diantara sekuen lainnya yaitu sebesar 0,062.

c. Karakterisasi Sekuen ITS

1) Amplifikasi DNA *Durio macrantha* sekuen ITS

Amplifikasi hasil isolasi sampel *D. macrantha* DM 86 a menggunakan sekuen ITS menunjukkan pita DNA yang tebal, tunggal, dan berpendar (tampak jelas). Pita DNA target (amplikon) menunjukkan bahwa pita DNA sampel DM 86 a yang dihasilkan teramplifikasi sesuai dengan target daerah *Internal Transcribed Spacer* yaitu dalam rentang 1000 bp yang dapat dilihat pada Gambar 4.11.

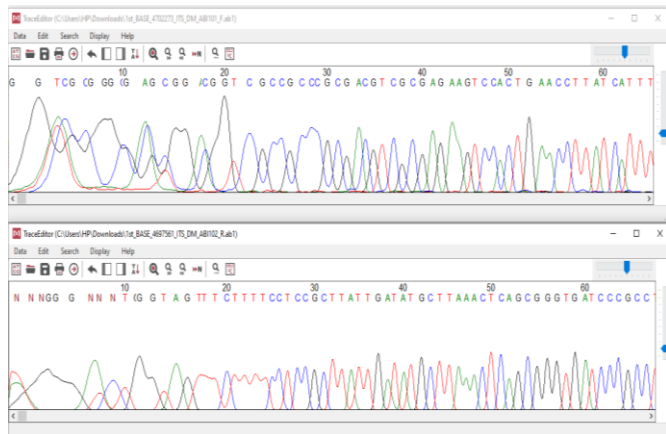


Gambar 4.11 Amplifikasi pita DNA *Durio macrantha* sekuen ITS

2) Elektroforegram sekuen ITS

Data yang akan diolah berasal dari data hasil sekuensing yang diterima dalam format AB1 yang didalamnya terdapat dua file yaitu file primer *forward* dan *reverse* dalam bentuk elektroforegram. Data elektroforegram dilihat berdasarkan lengkungan bukit dan lembah yang masing-masing memiliki 4 warna yang dapat dilihat pada Gambar 4.9. Perbedaan lengkungan warna yang ditunjukkan oleh data elektroforegram disesuaikan dengan jenis nukleotida, seperti warna merah untuk timin (T), warna biru untuk sitosin (C), warna hijau untuk adenin (A), dan warna hitam untuk guanin (G). Data

elektroforegram *D. macrantha* sekuen ITS tidak relatif baik karena menunjukkan banyak lengkungan pada elektroforegram yang saling tumpang tindih yang dapat dilihat pada Gambar 4.12. Sehingga wajib dilakukan pemotongan bagian awal dan akhir elektroforegram.



Gambar 4.12 Elektroforegram sekuen ITS (bagian atas *forward* dan bagian bawah *reverse*) Keterangan warna: merah untuk timin (T), warna biru untuk sitosin (C), warna hijau untuk adenin (A), dan warna hitam untuk guanin (G)

3) Hasil BLAST sekuen ITS

Hasil BLAST sampel DM (4697561) pada sekuen ITS dengan sekuen hasil BLAST yang diperoleh dari NCBI menunjukkan sebanyak 100 spesies yang terdiri

dari genus *Malvaceae* (94%) dan terdapat beberapa anggota genus lain seperti *Cullenia*, *Kostermansia*, dan *Neesia* yang dapat dilihat pada Lampiran. Dua puluh empat spesies dengan *percent identity* dan no aksesori yang berbeda pada satu spesies dipilih untuk dilakukan proses penyejajaran dan rekonstruksi pohon filogenetik yang dapat dilihat pada Tabel 4.5. Pemilihan pada *percent identity* paling tinggi disebabkan karena semakin tinggi nilainya maka tingkat homologi (kemiripan) antar spesies jauh lebih besar.

Tabel 4.5 Sekuen ITS hasil BLAST

Spesies	Kode Aksesori	ID (%)	Nilai Kueri	Nilai E
<i>Durio zibethinus</i>	MF629779.1	100,00%	86%	0,0
<i>Durio zibethinus</i>	MW318979.1	100,00%	85%	0,0
<i>Durio zibethinus</i>	MT230655.1	100,00%	81%	0,0
<i>Durio zibethinus</i>	AF233304.1	100,00%	81%	0,0
<i>Durio zibethinus</i>	ON817266.1	98,06%	73%	0,0

Tabel 4.5 Lanjutan

Spesies	Kode Akses	ID (%)	Nilai Kueri	Nilai E
<i>Durio kutejensis</i>	AF287717.1	97,39%	81%	0,0
<i>Durio kutejensis</i>	MF629750.1	93,01%	86%	0,0
<i>Durio oxleyanus</i>	AF287712.1	98,26%	81%	0,0
<i>Durio Dulcis</i>	AF287714.1	98,69%	81%	0,0
<i>Durio graveolens</i>	MF629765.1	98,11%	87%	0,0
<i>Durio graveolens</i>	MT230661.1	98,40%	81%	0,0
<i>Durio graveolens</i>	AF287718.1	98,26%	81%	0,0
<i>Durio carinatus</i>	AF287708.1	97,53%	81%	0,0
<i>Durio beccarianus</i>	AF287707.1	90,80%	81%	0,0
<i>Durio affinis</i>	AF287705.1	90,78%	81%	0,0
<i>Durio singaporensis</i>	AF287701.1	90,53%	81%	0,0
<i>Durio griffithii</i>	AF233310.1	90,76%	81%	0,0

Tabel 4.5 Lanjutan

Spesies	Kode Akses	ID (%)	Nilai Kueri	Nilai E
<i>Durio griffithii</i>	MT230666.1	90,48%	81%	0,0

4) *Multiple Aligment* sekuen ITS

Proses *sequence aligment* (penyejajaran) menggunakan sekuen dari hasil BLAST yang memiliki tingkat kedekatan tertinggi dengan sampel DM (4697561) yaitu sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) dan *D. zibethinus* (AF233304.1). Penyejajaran dilakukan menggunakan web *MultAlin*. Hasil penyejajaran menggunakan web *MultAlin* dari ketiga sampel menunjukkan tingkat kemiripan sekuen yang berbeda pada sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) memiliki kemiripan, sedangkan sekuen *D. zibethinus* (AF233304.1) terdapat beberapa perbedaan yaitu 16 sekuen tidak *conserved* yang dapat dilihat pada Lampiran 4.

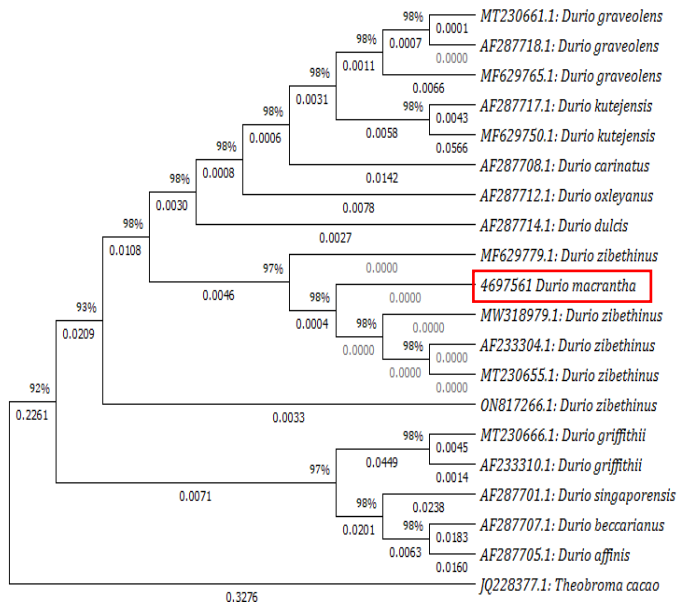
5) Rekonstruksi pohon filogenetik sekuen ITS

Hasil rekonstruksi pohon dilakukan dengan menggunakan metode *Neighbor Joining* dengan model *Tamura 3-parameter*. Pada proses rekonstruksi pohon dilakukan dengan nilai ulagan

bootstrap 1000 kali. Hasil kontruksi menunjukkan bahwa *D. macrantha* membentuk *clade* dengan *D. zibethinus* dengan *bootstrap* atau pengulangan sebanyak 99%. Metode *Neighbor Joining* digunakan karena dapat menghasilkan panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan menstimulasi tingkat variasi dari perubahan evolusi yang terjadi. Sementara itu penggunaan parameter *Tamura-3* untuk dapat mengetahui posisi dan menghitung jarak genetik dari *D. macrantha* terhadap spesies *Durio* lainnya (Gambar 4.7).

Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor Joining* karena dapat menghasilkan panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan menstimulasi tingkat variasi dari perubahan evolusi yang terjadi. Sementara itu, rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcL* dengan metode *Neighbor Joining* menggunakan model untuk mengetahui posisi dan menghitung jarak genetik dari sampel DM (4697561) terhadap spesies *Durio* lainnya. Hasil rekonsntruksi menunjukkan bahwa terdapat tiga *clade*, *clade* 1 menunjukkan posisi sampel DM (4697561) yang membentuk *clade* dengan *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus*

(MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1) dengan *bootstrap* atau pengulangan sebanyak 98%. dengan nilai *bootstrap* 100%. Sementara itu, *clade* kedua menunjukkan posisi dari *D. griffithii*, *D. singaporensis*, *D. beccarianus*, *D. affinis*. *Clade* ketiga menunjukkan posisi sekuen *Theobroma cacao* yang digunakan sebagai outgrup (Gambar 4.13).



Gambar 4.13 Pohon filogenetik sekuen ITS

6) Komposisi nukleotida pada sekuen ITS

Komposisi nukleotida digunakan untuk mengetahui tingkat kemiripan suatu spesies

berdasarkan laju mutasi dan laju evolusi. Komposisi nukleotida umumnya terdiri dari empat nukleotida seperti Adenin (A), Guanin (G), Timin atau Urasil (T atau U), dan Sitosin (C). Komposisi nukleotida sampel DM (4697561) dibandingkan dengan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1) yang merupakan hasil BLAST dengan karakter similaritas tertinggi menunjukkan komposisi nukleotida yang sama yaitu T: 13,7%, C: 37,3%, A: 16,9%, G: 32,2%.

Berdasarkan data komposisi nukleotida dua puluh sampel yang dapat dilihat pada Tabel 4.6 menunjukkan jumlah rata-rata presentase komposisi nukleotida terbanyak yaitu pada basa C sebesar 36.7% dan G sebesar 32.0%. Sementara itu untuk komposisi sekuen sampel DM (4697561) memiliki perbedaan dengan komposisi beberapa sekuen yang diperoleh dari hasil BLAST di NCBI kecuali untuk sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1).

Tabel 4.6 Komposisi nukleotida sekuen ITS

Spesies	Komposisi Nukleotida (%)				Total
	T(U)	C	A	G	
<i>Durio macrantha</i> (4697561)	13,7	37,3	16,9	32,2	687
<i>Durio zibethinus</i> (MF629779.1)	13,8	37,3	16,6	32,3	681
<i>Durio zibethinus</i> (MW318979.1)	13,7	37,3	16,9	32,2	687
<i>Durio zibethinus</i> (MT230655.1)	13,7	37,3	16,9	32,2	687
<i>Durio zibethinus</i> (AF233304.1)	13,7	37,3	16,9	32,2	687
<i>Durio zibethinus</i> (ON817266.1)	13,0	37,4	17,0	32,5	652
<i>Durio graveolens</i> (MF629765.1)	14,0	36,9	16,9	32,3	688
<i>Durio graveolens</i> (MT230661.1)	13,7	37,1	17,2	32,1	688
<i>Durio graveolens</i> (AF287718.1)	13,7	37,0	17,2	32,2	687
<i>Durio dulcis</i> (AF287714.1)	13,2	37,7	16,9	32,2	687
<i>Durio oxleyanus</i> (AF287712.1)	14,0	37,2	17,2	31,7	688

Tabel 4.6 Lanjutan

Spesies	Komposisi Nukleotida (%)				Total
	T(U)	C	A	G	
<i>Durio carinatus</i> (AF287708.1)	14,4	36,6	17,0	32,0	688
<i>Durio kutejensis</i> (AF287717.1)	13,8	36,7	17,2	32,3	687
<i>Durio kutejensis</i> (MF629750.1)	13,4	38,1	17,0	31,4	687
<i>Durio beccarianus</i> (AF287707.1)	14,6	35,7	17,4	32,3	694
<i>Durio affinis</i> (AF287705.1)	13,9	36,0	17,7	32,4	691
<i>Durio singaporensis</i> (AF287701.1)	14,2	35,3	18,5	31,9	696
<i>Durio griffithii</i> (MT230666.1)	13,1	36,4	17,6	32,8	686
<i>Durio griffithii</i> (AF233310.1)	13,3	36,7	17,3	32,7	686
<i>Theobroma cacao</i> (JQ228377.1)	19,0	31,6	21,6	27,9	649

7) Jarak genetik *Durio macrantha*

Nilai jarak genetik sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen hasil blast yang sudah dilakukan

alignment dapat dilihat pada Tabel *pairwise distance* pada Lampiran yang menunjukkan bahwa sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1) memiliki jarak genetik sangat rendah sebesar 0,000. Sedangkan sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *Theobroma cacao* (JQ228377.1) memiliki jarak genetik yang paling tinggi diantara sekuen lainnya yaitu sebesar 0,589.

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Karakterisasi Morfologi *Durio macrantha*

a. Morfologi daun dan batang *Durio macrantha*

Perbedaan karakter sampel DM 86 a dan 86 b yang diperoleh dari hasil konservasi dalam bentuk anakan pohon (*sapling*) yaitu terletak pada panjang dan lebar tangkai, daun, swollen, serta tinggi dan lebar pohon. Fungsi swollen pada spesies *durio* diduga hasil adaptasi yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan air. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Eggli (2002) yang mengungkapkan bahwa swollen merupakan pembengkakan pada tangkai daun khususnya spesies *Durio zibethinus* Murr. yang termasuk kedalam *family Bombacaceae* memiliki karakter berupa adanya swollen yang berasal dari hasil adaptasi pada batang yang berfungsi dalam penyimpanan air. Sementara itu, perbedaan morfologi diduga dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu adanya kompetisi antar tanaman yang berada pada vak XIX.F dan alelopati. Hal tersebut ditunjukkan dengan pertumbuhan *D. macrantha* kurang optimal. Pengaruh pertama yaitu mengenai kompetisi antar tanaman diduga disebabkan karena pengaturan jarak tanaman yang terlalu dekat atau rapat, sehingga menyebabkan kelembapan udara tinggi yang

mengakibatkan tanaman mudah terserang penyakit dan persaingan penyerapan unsur hara serta intensitas cahaya matahari kurang, sehingga mengganggu proses fotosintesis yang mengakibatkan daun dan batang berukuran kecil dari ukuran normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Hayata *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa kompetisi tanaman dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya pengaturan jarak tanaman. Jarak tanam yang terlalu dekat akan mengakibatkan kelembapan udara tinggi, penyerapan unsur hara yang kurang optimal, dan ukuran daun atau batang lebih kecil dibandingkan ukuran normal. Sedangkan jarak tanam terlalu jauh akan mengakibatkan pemanfaatan lahan tidak efisien dan sinar matahari yang relatif banyak, sehingga dimanfaatkan oleh gulma yang akan tumbuh di sekitar tumbuhan utama. Sementara itu, penelitian Muslih *et al.* (2022) menyatakan bahwa tumbuhan hasil konservasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan khususnya dari anakan pohon yang diperoleh menjadi pohon dewasa yaitu sinar matahari yang mempengaruhi proses fotosintesis pada tumbuhan, sehingga kurangnya sinar matahari mengakibatkan proses fotosintesis tidak optimal yang

ditunjukkan oleh pertumbuhan lambat pada tanaman tersebut.

Pengaruh lain yaitu adanya alelopati yang merupakan salah satu fenomena biologi yang sering terjadi pada tumbuhan dengan menghasilkan senyawa alelokimia. Senyawa tersebut diperoleh dari hasil metabolit sekunder pada tumbuhan seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin yang dapat mempengaruhi pertumbuhan, berlangsungnya kehidupan (penyerapan zat hara, proses fotosintesis, aktivitas enzim, respirasi), dan reproduksi suatu tumbuhan. Umumnya senyawa alelokimia ditemukan pada bagian daun, batang, akar, bunga, dan biji (Cheng and Cheng, 2015; Sastroutomo, 1990). Mekanisme penghambatan tersebut yaitu dengan cara senyawa alelokimia yang terdapat didalam serasah daun atau kulit batang dilepas bebas ke lingkungan selama proses dekomposisi (Adiputra, 2022). Pelapasan senyawa alelokimia pada proses dekomposisi residu daun dan kulit batang yang jatuh pada permukaan tanah diserap yang menyebabkan terhambatnya proses pertumbuhan baik memanjang ke atas atau melebar kesamping, sehingga tanaman yang dihasilkan lebih pendek dibandingkan tanaman disekitarnya. Berdasarkan data yang diperoleh terdapat beberapa tumbuhan pada vax XIX.F yang

menghasilkan senyawa alelokimia yaitu *Antidesma neurocarpum* Miq. (mengandung tanin, flavonoid, alkaloid pada bagian daun dan kulit pohon), *Tabernaemontana macrocarpa* Jack (mengandung tanin, flavonoid, alkaloid pada bagian daun), dan *Gnetum gnemon* var. *gnemon* (mengandung tanin, flavonoid, saponin pada bagian daun) yang diduga menghambat pertumbuhan *D. macrantha*. Terhambatnya proses pertumbuhan tersebut diduga karena senyawa alelokimia yang diserap oleh akar *D. macrantha* menghambat hormon pertumbuhan seperti asam giberelin yang dapat mempengaruhi pertumbuhan, karena fungsi asam giberelin yaitu untuk memacu pembelahan sel, pembesaran sel, dan pemanjangan batang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Visitia *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa terhambatnya proses pembelahan dan pemanjangan sel dapat dipengaruhi oleh asam giberelin dan asam indolasetat, sehingga pertumbuhan tanaman tidak normal.

b. Urat dan pola venasi daun *Durio macrantha*

Durio macrantha termasuk kedalam tumbuhan dikotil karena memiliki urat daun dengan pola menyirip yang ditandai dengan adanya vena primer (vena pada bagian tengah daun) dengan bentuk memanjang ke arah ujung daun, vena sekunder berasal dari percabangan

pembulu utama yang berhubungan dengan vena primer, dan vena tersier membentuk percabangan atau jaring (retikulum) yang berhubungan dengan vena sekunder. Hal ini sesuai dengan penelitian Fujita dan Mochizuki (2006) yang menyatakan bahwa tumbuhan yang termasuk kelompok dikotil memiliki daun dengan pola menyirip yang terdiri dari vena primer dan vena lateral (vena sekunder dan vena tersier). Pada bagian vena biasanya memiliki pola venasi yang beragam.

Setiap tumbuhan memiliki pola venasi tertentu, umumnya tumbuhan dikotil dan monokotil memiliki pola venasi yang berbeda. Namun, terdapat beberapa tumbuhan monokotil yang memiliki kesamaan pada pola venasi yang terdapat pada tumbuhan dikotil. Pola venasi daun pada tanaman merupakan salah satu keanekaragaman morfologi. Keanekaragaman venasi daun dipengaruhi oleh bentuk daun, pola pembelahan sel, aktifitas auksin dan luas permukaan daun (Fujita & Mochizuki, 2006). Pada daun *D. macrantha* bagian vena tersier menunjukkan pola venasi regular retikulum yaitu vena tersier membentuk formasi areola yang relatif beraturan. Areola merupakan urat daun yang membentuk bidang kecil di seluruh jaringan daun. Hickey (1973) menyatakan bahwa bentuk areola dibagi menjadi 5 tipe

yaitu *triangular* (tiga sisi), *quadrangular* (empat sisi), *pentagonal* (lima sisi), *polygonal* (lebih dari lima sisi), *rounded* (bulat), dan *irregular* (tidak beraturan). Spesies *D. macrantha* memiliki bentuk areola *pentagonal* dengan vena kecil (*veinlets*) yang memiliki percabangan lebih dari satu (Gambar 4.12). Pola *veinlets* pada *D. macrantha* yang diamati memiliki bentuk vena tersier *tri-veinlet*.

c. Keragaman trikoma pada *Durio macrantha*

Spesies *Durio* umumnya memiliki ciri khusus yaitu terdapat trikoma yang menutupi bagian daun abaksial (Priyanti *et al.*, 2015). Trikoma merupakan bagian pelengkap dari sel epidermis yang memiliki variasi pada karakter seperti bentuk, struktur, dan fungsi yang berbeda. Variasi pada karakter trikoma terjadi berdasarkan sifat dan jumlah sel yang membangun. Trikoma dibagi menjadi dua jenis berdasarkan jumlah sel yaitu uniseluler dan multiseluler. Trikoma uniseluler merupakan trikoma yang terdiri dari satu sel, sedangkan untuk trikoma multiseluler terdiri dari banyak sel. Umumnya terdapat beberapa fungsi trikoma yaitu untuk melindungi tanaman dari tekanan biotik atau abiotik, mengendalikan pada suhu tinggi, sinar radiasi matahari, mempengaruhi fluktuasi, dan mencegah kehilangan air pada permukaan daun (Tozin, Stefany, and Tatiane, 2016).

Menurut Salma (1999) trikoma memiliki variasi pada bagian karakter sehingga dapat digunakan dalam menentukan ciri taksonomi secara mikromorfologi pada suatu spesies tumbuhan tertentu. Karakter variasi pada trikoma semakin banyak digunakan sebagai sumber karakter identifikasi dan klasifikasi penting dalam penentuan taksonomi beberapa tanaman khususnya spesies *Durio*. Umumnya trikoma dibagi menjadi 2 jenis berdasarkan fungsi sekresi yaitu trikoma *glandular* dan trikoma *non-glandular*. Trikoma *glandular* merupakan trikoma yang memiliki fungsi sekresi karena memiliki jaringan sekretori, sedangkan trikoma *non-glandular* merupakan trikoma yang tidak memiliki fungsi sekresi karena tidak memiliki jaringan sekretori. Jaringan sekretori atau kelenjar internal merupakan jaringan yang berfungsi menghasilkan suatu zat yang tidak keluar dari tubuh tumbuhan (Wahyu, 2017). Sementara itu trikoma *glandular* dan *non-glandular* dapat dibedakan berdasarkan bentuknya. Trikoma *glandular* memiliki kepala kelenjar, sedangkan pada trikoma *non-glandular* tidak memiliki kepala kelenjar sehingga dapat membentuk penutup yang rapat pada permukaan organ tumbuhan (Tozin, Stefany, and Tatiane, 2016). Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa

trikoma *D. macrantha* termasuk kedalam jenis *non-glandular*. Berikut tipe trikoma daun *D. macrantha*:

a) *Complex peltate scale*

Complex peltate scale merupakan trikoma yang terdiri dari satu atau dua lobus dengan bentuk margin bergelombang dan relatif memiliki panjang fimbriate pendek. Berdasarkan pengamatan trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu coklat, coklat tua, dan coklat kemerahan dengan warna dasar keemasan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Salma (1999) yang menyatakan bahwa trikoma tipe *complex peltate scale* terdiri dari 1-4 lobus dengan bentuk margin bergelombang dan memiliki panjang lengan yang pendek serta memiliki warna pada bagian tepi coklat tua hingga coklat kemerahan dengan warna dasar keemasan. Sementara itu, trikoma *complex peltate scale* banyak ditemukan menutupi bagian permukaan daun *D. macrantha* bagian abaksial dengan ukuran panjang berkisar 0,68 mm dan lebar 0,70 mm. Ukuran tersebut tidak dapat dijadikan patokan karena trikoma *complex peltate scale* memiliki ukuran panjang dan lebar yang bervariasi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Priyanti *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa

trikoma tipe ini banyak ditemukan di bagian permukaan daun abaksial.

b) *Simple peltate scale*

Simple peltate scale merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin tidak rata dan terdapat 16 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang tidak sama. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Salma, 1999) yang menyatakan bahwa trikoma tipe ini memiliki bentuk margin tidak rata dengan panjang masing-masing lengan yang berbeda. Berdasarkan pengamatan menunjukkan trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Sementara itu, trikoma *simple peltate scale* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,38 mm dan lebar 0,35 mm.

c) *Flat stellate hair*

Flat stellate hair merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin tidak rata dan terdapat 8 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang tidak sama. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Salma, 1999) yang menyatakan bahwa trikoma tipe ini memiliki bentuk margin tidak rata dengan panjang

masing-masing lengan yang berbeda. Berdasarkan pengamatan menunjukkan trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *flat stellate* hair banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,38 mm dan lebar 0,35 mm.

d) *Three-armed stellate*

Three-armed stellate merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin rata dan terdapat 3 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang sama. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Shazwan *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa trikoma tipe ini memiliki 1 lobus dengan bentuk margin rata dan pada masing-masing lengan memiliki panjang yang sama. Berdasarkan pengamatan pada trikoma tipe ini menunjukkan warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *three-armed stellate* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,68 mm, lebar 0,38 mm, dan panjang lengan 0,29 mm.

e) *Four-armed stellate*

Four-armed stellate merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin rata dan terdapat 4 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang sama. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Salma (1999) yang menyatakan bahwa trikoma tipe ini memiliki bentuk margin rata dengan panjang masing-masing lengan hampir sama. Berdasarkan pengamatan menunjukkan trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *four-armed stellate* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,55 mm, lebar 0,62 mm, dan panjang lengan 0,34 mm.

f) *Five-armed stellate*

Five-armed stellate merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin rata dan terdapat 5 lengan (ray) dan relatif memiliki panjang sama. Trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *five-armed stellate* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,35 mm, lebar

0,41 mm, dan panjang lengan 0,19 mm. Ukuran trikoma tipe ini memiliki banyak variasi.

g) *Seven-armed stellate*

Seven-armed stellate merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin rata dan terdapat 7 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang tidak sama. Trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *seven-armed stellate* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,51 mm, lebar 0,60 mm, dan panjang lengan 0,23 mm.

h) *Eleven-armed stellate*

Eleven-armed stellate merupakan trikoma yang terdiri dari 1 lobus dengan bentuk margin rata dan terdapat 11 lengan (ray) yang relatif memiliki panjang tidak sama. Trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi yaitu putih kecoklatan dan coklat dengan warna dasar keemasan. Trikoma *eleven-armed stellate* banyak ditemukan dibawah trikoma tipe *complex peltate scale* dengan ukuran panjang berkisar 0,45 mm, lebar 0,46 mm, dan panjang lengan 0,19 mm.

Trikoma pada daun *D. macrantha* bagian abaksial tersusun secara bertumpuk dari 8 tipe yang berhasil diamati. Pengamatan trikoma pada penelitian ini tidak hanya ditemukan pada bagian daun *D. macrantha*, namun terdapat trikoma yang ditemukan pada bagian swollen dan tangkai daun. Trikoma yang terdapat pada swollen dan tangkai daun memiliki satu tipe yang sama yaitu *Complex peltate scale*. Trikoma *Complex peltate scale* yang terdapat pada bagian swollen dan tangkai daun terdiri dari satu lobus dengan bentuk margin bergelombang dan relatif memiliki panjang fimbriate pendek. Trikoma tipe ini memiliki warna pada bagian tepi coklat, coklat kemerahan, dan coklat tua dengan warna dasar keemasan (Salma, 1999).

2. Karakterisasi *DNA Barcoding*

a. Analisis visualisasi DNA *Durio macrantha*

Analisis visualisasi sampel hasil isolasi DNA merupakan tahap awal sebelum masuk ke dalam tahap PCR. Tujuan dilakukannya visualisasi DNA yaitu untuk mengetahui kualitas DNA hasil isolasi dari sampel DM 86 A dengan menggunakan elektroforesis. Proses visualisasi DNA menggunakan 5 bahan yaitu DNA sampel DM 86, *buffer*, DNA *leader*, gel *agarose* 1%, dan *loading dye*. Penggunaan *loading dye* berfungsi sebagai pewarna untuk

mempermudah proses memasukan DNA ke dalam sumur, penanda DNA pada gel *agarose*, dan penambah densitas sehingga DNA terletak di bagian bawah sumur (Novitasari *et al.*, 2014). Hasil Visualisasi menunjukkan pita DNA yang dihasilkan tebal meskipun terdapat *smear* pada bagian bawah. *Smear* tersebut diduga dapat disebabkan oleh DNA yang terdegradasi ketika proses isolasi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Iqbal *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa *smear* dapat disebabkan oleh adanya kontaminasi dari protein dan sisa larutan yang terbawa ketika proses isolasi atau DNA yang terdegradasi ketika proses isolasi.

b. Karakterisasi sekuen *rbcl*

1) Analisis amplifikasi DNA *Durio macrantha*

Analisis hasil amplifikasi menunjukkan bahwa primer *rbcl* mampu mengamplifikasi DNA sampel DM 86 a dengan baik yang ditunjukkan oleh hasil amplikon yang membentuk satu pita DNA cukup tebal dan sesuai dengan ukuran target. Keberhasilan pada proses amplifikasi dan ketebalan pita DNA dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti tingginya konsentrasi DNA, komponen PCR, hasil ekstraksi, primer spesifik, dan penyuntingan tepat pada proses *annealing* (Sasmito, Rahadian, dan Izzati, 2014).

Hasil amplifikasi menggunakan pimer *rbcL* menunjukkan kisaran panjang 500-750 bp. Hasil tersebut relevan dengan penelitian Kress and Erickson (2007) yang menyatakan bahwa sekuen *rbcL* umumnya menunjukkan hasil pita DNA dengan kisaran panjang 550-600 bp. Sementara itu, pada penelitian Octavia *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa sekuen *rbcL* memiliki kisaran panjang 500 bp.

2) Analisis elektroforegram sekuen *rbcL*

Elektroforegram berfungsi untuk mengetahui informasi dari kualitas sekuen yang diperoleh dan letak mutasi gen. Data sekuen yang diperoleh dapat menunjukkan adanya nukleotida yang tidak dapat terbaca pada saat proses sekuensing seperti N atau terdapat *gap* (nukleotida kosong). Sehingga dalam proses editing lengkungan warna yang dihasilkan pada elektroforegram penting untuk dilihat pada saat analisis tujuannya yaitu untuk dapat menganalisis dan menyunting sekuen jika diperoleh *gap* atau N (Eidhammer, Janassen, and Taylor, 2004).

Data elektroforegram sekuen *rbcL D. macrantha* bagian *forward* dan reverse memiliki karakteristik panjang yang sama yaitu panjang sekuen berkisar 573 bp. Namun perlunya dilakukan proses editing

dan penggabungan atau penyejajaran sekuen melalui metode *contig*, sehingga diperoleh sekuen dengan daerah yang lengkap. Proses editing dan penggabungan tersebut didasarkan pada data elektroforegram yang dijadikan sebagai indikator. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Eidhammer *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa data elektroforegram dapat dimanfaatkan dalam proses editing untuk mengidentifikasi adanya mutasi gen atau nukleotida yang tidak terbaca (N). Hasil *contig* pada sekuen *rbcL* menunjukkan panjang 563 bp yang dapat dilihat pada Lampiran 3.

3) Analisis hasil BLAST sekuen *rbcL*

BLAST merupakan metode yang digunakan untuk membandingkan urutan nukleotida secara spesifik antar spesies yang didasarkan pada proses mutasi urutan nukleotida suatu spesies akibat terjadinya evolusi (Altschul *et al.*, 1990). Hasil BLAST menunjukkan sebanyak 100 sekuen dengan kemiripan pada genetik dari berbagai no aksesori yang berbeda. Seratus sekuen yang dihasilkan dari proses BLAST diambil sebanyak 8 sekuen yang masih termasuk ke dalam satu genus (*Malvaceae*). Sekuen yang dapat dipilih harus memiliki nilai ID (*identity*) di atas 85%.

Sementara itu, terdapat indikator lain yang dapat dijadikan penentu dalam pemilihan sekuen hasil BLAST yaitu E-value (nilai dugaan) dan *Query value*. Hasil BLAST sekuen *rbcl D. macrantha* dari 8 sekuen sebanyak 7 sekuen memiliki ID dan *Query value* yang sama yaitu sebanyak 100% yang menunjukkan persamaan kandungan DNA dengan tingkat homologi yang diperoleh pada setiap genus memiliki variasi rendah, sehingga menunjukkan bahwa sekuen *rbcl* pada *D. macrantha* hanya mampu membedakan pada tingkat interspecies (genus). Hal tersebut disebabkan sekuen *rbcl* memiliki tingkat mutasi rendah karena sekuen yang berperan dalam mengkode protein RuBisCo yang berfungsi dalam fiksasi karbon dalam proses fotosintesis dan salah satu sekuen yang memiliki tingkat mutasi rendah dibandingkan sekuen lainnya, sehingga diduga menyebabkan tingkat persamaan antar spesies tinggi (Nurhasanah *et al.*, 2019; Basith, 2015; Hollingsworth, Graham, and Little, 2011).

Analisis hasil BLAST sekuen *rbcl D. macrantha* menunjukkan bahwa terdapat dua sekuen yang memiliki tingkat homologi tertinggi yaitu *D. zibethinus* (MF139708.1) dan *D. zibethinus*

(LC730078.1) dengan nilai E 0.0, nilai kuiri 100%, nilai ID 100%. Nilai E mendekati 0, nilai kuiri mendekati 100%, dan nilai ID diatas 97% menunjukkan bahwa sampel yang diidentifikasi signifikan dengan sampel yang diperoleh dari hasil BLAST. Pemilihan sekuen tersebut mengacu pada penelitian Baker (2018) yang menyatakan bahwa tingginya tingkat kemiripan yang diperoleh, maka tingkat homologi antar sekuen semakin tinggi.

4) Analisis *Multiple Aligment* sekuen *rbcl*

Sequence alignment (penyejajaran baris) merupakan salah satu metode mengidentifikasi urutan DNA, RNA, atau protein untuk mengetahui daerah yang memiliki kesamaan atau perbedaan (*gap*) pada nukleotida. Umumnya metode *sequence alignment* dibagi menjadi dua berdasarkan jumlah sekuen yang digunakan yaitu *pairwise sequence alignment* (penyejajaran dua sekuen) dan *multiple sequence alignment* (penyejajaran sekuen dalam jumlah banyak). Proses analisis ini dengan *multiple sequence alignment* dapat menggunakan web atau aplikasi pemrograman seperti *MultAlin*, Clustal Omega, dan Bioedit. Sekuen yang digunakan dalam proses *sequence alignment* diambil dari hasil BLAST

dilihat dari tingkat yang terdekat dengan sekuen *D. macrantha* (Altschul, 1989; Emilia, Widodo, dan Rahman, 2021).

Analisis *Multiple alignment* pada sekuen *rbcL* menunjukkan bahwa sekuen *D. macrantha* dengan *D. zibethinus* (MF139704.1) dan *D. zibethinus* (MZ479694.1) tidak memiliki nilai *gap* (100%) dari panjang sekuen yang sama yaitu 563 bp. Sementara itu, hasil *sequence alignment* menunjukkan sekuen *D. macrantha* dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139704.1) dan *D. zibethinus* (MZ479694.1) tidak ditemukan perbedaan nukleotida yang dapat dilihat pada Lampiran 5.

5) Analisis pohon filogenetik sekuen *rbcL*

Pohon filogenetik merupakan salah satu cara untuk menggambarkan tingkat kekerabatan antar organisme yang didasarkan pada hubungan evolusi dalam bentuk pohon bercabang. Rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcL* menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) yang berfungsi dalam menggambarkan hubungan antar spesies dengan baik karena terdapat pembatasan pada *clade* yaitu dengan membangun pohon filogenetik dengan pengabungan beberapa sekuen untuk dapat memberikan estimasi

hasil paling baik pada panjang cabang terdekat dengan merefleksikan jarak yang nyata antar sekuen. Metode NJ juga menghasilkan tingkat akurasi yang tinggi pada pengukuran jarak antar sekuen yang dapat digunakan dalam membangun pohon filogenetik dengan menggunakan beberapa model (Prasetya *et al.*, 2011; Pangestika, Anto, dan Hermin, 2015). *Clade* merupakan salah satu konsep bioinformatika yang menggambarkan proses evolusi suatu kelompok dari satu taksonomi melalui pohon filogenetik (De Queiroz, 2007).

Model yang digunakan dalam analisis rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcl* yaitu *Kimura-2* dengan nilai *bootstrap* (pengulangan) sebanyak 1000. Menurut Hall (2008) nilai *bootstrap* sebanyak 100-1000 sering digunakan untuk dapat memperkirakan tingkat kepercayaan pohon filogenetik yang terbentuk, sehingga semakin tinggi nilai *bootstrap* maka tingkat kepercayaan terhadap pohon filogenetik yang terbentuk semakin tinggi. Sementara itu, penggunaan model *Kimura-2* disebabkan karena konsistensi dalam pembentukan pohon filogenetik pada sekuen ini lebih baik dibandingkan dengan model lainnya.

Analisis rekonstruksi pohon filogenetik sekuen *rbcL* menunjukkan posisi *D. macrantha* berada pada *clade* yang berbeda dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1), namun masih dalam garis nenek moyang yang sama dengan nilai *bootstrap* 100% dan merupakan sekuen yang terdekat posisinya dengan sekuen *D. macrantha*. Pangestika *et al.* (2015) menyatakan bahwa tingkat kepercayaan suatu *clade* dapat dilihat berdasarkan nilai *bootstrap*-nya. Sehingga suatu *clade* dapat dipercaya jika menunjukkan nilai *bootstrap* diatas 90%, sedangkan suatu *clade* tidak dipercaya atau diragukan jika memiliki nilai *bootstrap* 25%. Hal tersebut dapat memberikan gambaran informasi bahwa *D. macrantha* dan *D. zibethinus* memiliki hubungan kekerabatan yang dekat. Sementara itu, penggunaan metode *Neighbor Joining* dengan parameter *Kimura-2* dapat memisahkan sekuen *Theobroma cacao* (GQ981898.1). Sekuen *T. cacao* digunakan sebagai *outgroup* karena berasal dari *family* yang sama yaitu *Malvaceae*. Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan genus *T. cacao* memiliki data yang cukup lengkap dibandingkan genus lain (Teh *et al.*, 2017). Sehingga sekuen *rbcL* dapat mendeterminasikan

secara maksimal pada tingkat interspesies, namun kurang maksimal dalam mendeterminasi pada tingkat intraspecies yang ditunjukkan sekuen *D. testudinarius* (MZ479685.1) dan *D. excelsus* (MZ479682.1) berada pada satu calde yang sama.

Rekontruksi pohon filogenetik menggunakan sekuen *rbcL* menunjukkan adanya pengelompokan berdasarkan hubungan antar taksa. Umumnya pengelompokan pohon filogenetik dibagi menjadi 3 kelompok yaitu monofiletik, parafiletik, dan polifiletik (Hermsen and Jonathan, 2019). Pohon filogenetik *D. macrantha* menggunakan sekuen *rbcL* termasuk kedalam kelompok monofiletik. Monofiletik merupakan kelompok yang mencakup satu nenek moyang yang sama dengan keturunannya. Berdasarkan data pohon filogenetik yang dilihat dari panjang jarak evolusi menunjukkan bahwa spesies *D. macrantha* merupakan spesies primitif karena memiliki jarak evolusi panjang yang mengakibatkan proses evolusi lambat dibandingkan dengan spesies *D. zibethinus* yang memiliki jarak evolusi pendek sehingga mengakibatkan proses evolusi lebih cepat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Anafarida dan Badruzsauhari (2020) yang menyatakan bahwa

spesies yang memiliki jarak evolusi panjang tergolong kedalam kelompok primitif yang menunjukkan bahwa proses evolusi berlangsung dalam waktu yang lama. Sedangkan untuk jarak pendek menunjukkan bahwa proses evolusi berlangsung dalam waktu yang singkat atau cepat.

6) Analisis komposisi nukleotida pada sekuen *rbcl*

Komposisi nukleotida dijadikan sebagai informasi dalam penentuan persamaan genetik dalam pengelompokan *clade* menggunakan pohon filogenetik. Jumlah komposisi nukleotida sampel DM (4697557) memiliki kesamaan dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1), *D. zibethinus* (MZ479694.1), dan *D. zibethinus* (LC730078.1). Sementara itu, berdasarkan rata-rata presentase komposisi nukleotida terbanyak ditunjukkan oleh basa T (Timin) sebesar 28.0% dan A (Adenin) sebesar 27.8%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Purnobasuki *et al.* (2022) yang mengungkapkan bahwa sekuen *rbcl* di dominasi oleh nukleotida T dan A yang terdiri dari sebagian besar urutan genom mitokondria dan plastid.

7) Analisis jarak genetik sekuen *rbcl*

Jarak genetik bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar suatu spesies melalui perbedaan nukleotida dalam suatu spesies yang menggambarkan tingkat keragaman genetik. Nilai jarak genetik rendah pada suatu spesies menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan dekat, sedangkan nilai jarak genetik tinggi pada suatu spesies menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan jauh (Gusmiaty *et al.*, 2017). Analisis jarak genetik yang dapat dilihat pada Lampiran menunjukkan bahwa sekuen sampel DM (4697557) dengan sekuen *D. zibethinus* (MF139708.1), *D. zibethinus* (MZ479694.1), dan *D. zibethinus* (LC730078.1) memiliki jarak genetik yang sangat rendah, sehingga sekuen sampel DM (4697557) dengan sekuen ketiga sekuen tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Sedangkan sekuen sampel DM (4697557) dengan sekuen *Theobroma cacao* (GQ981898.1) memiliki jarak genetik tinggi yang menunjukkan hubungan kekerabatan antar kedua sekuen tersebut jauh dibandingkan sekuen lainnya.

c. Karakterisasi sekuen ITS

1) Analisis amplifikasi pita DNA sekuen ITS

Analisis amplifikasi menunjukkan bahwa sekuen ITS mampu mengamplifikasi DNA sampel DM 86 a dengan baik yang ditunjukkan oleh hasil amplikon yang membentuk satu pita DNA cukup tebal dan sesuai dengan ukuran target. Keberhasilan pada proses amplifikasi dan ketebalan pita DNA dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti tingginya konsentrasi DNA, komponen PCR, hasil ekstraksi, primer spesifik, dan penyuntingan tepat pada proses annealing (Sasmito, Rahadian, dan Izzati, 2014).

Hasil amplifikasi menggunakan primer ITS menunjukkan kisaran panjang 1000 bp. Hasil tersebut relevan dengan penelitian Kishor dan Devi (2009) yang menyatakan bahwa umumnya sekuen ITS yang meliputi wilayah ITS1, 5.8S rDNA, dan ITS2 memiliki kisaran panjang ± 1000 bp.

2) Analisis elektroforegram sekuen ITS

Elektroforegram berfungsi untuk mengetahui informasi dari kualitas sekuen yang diperoleh dan letak mutasi gen. Data sekuen yang diperoleh dapat menunjukkan adanya nukleotida yang tidak dapat terbaca pada saat proses sekuensing seperti N atau terdapat *gap* (nukleotida kosong). Sehingga dalam proses editing, lengkung warna yang dihasilkan pada

elektroforegram penting untuk dilihat pada saat analisis tujuannya yaitu untuk dapat menganalisis dan menyunting sekuen jika diperoleh *gap* atau N (Eidhammer, Janassen, and Taylor, 2004).

Data elektroforegram sekuen ITS *D. macrantha* bagian *forward* dan reverse memiliki perbedaan yang spesifik pada karakteristik panjang sekuen yaitu sekuen *forward* berkisar 198 bp dan *reverse* berkisar 1004 bp. Sehingga diperlukan proses editing dan penggabungan atau penyejajaran sekuen. Proses editing dan penggabungan tersebut didasarkan pada data kromatogram yang dijadikan sebagai indikator. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Eidhammer *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa data elektroforegram dapat dimanfaatkan dalam proses editing untuk mengidentifikasi adanya mutasi gen atau nukleotida yang tidak terbaca (N). Hasil *contig* pada sekuen ITS menunjukkan panjang 846 bp yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Sementara itu, wilayah sekuen ITS pada *D. macrantha* yang diperoleh terbagi menjadi 3 yaitu ITS 1 dari panjang basa 103-392 bp, ITS 5,8 dari panjang basa 393-555 bp, dan ITS 2 dari panjang basa 556-790 bp.

3) Analisis hasil BLAST sekuen ITS

BLAST merupakan metode yang digunakan untuk membandingkan urutan nukleotida secara spesifik antar spesies yang didasarkan pada proses mutasi urutan nukleotida suatu spesies akibat terjadinya evolusi (Altschul *et al.*, 1990). Hasil BLAST menunjukkan sebanyak 100 sekuen dengan kemiripan pada genetik dari berbagai no aksesori yang berbeda. Seratus sekuen yang dihasilkan dari proses BLAST diambil sebanyak 18 sekuen yang masih termasuk ke dalam satu genus (*Malvaceae*). Sekuen yang dapat dipilih harus memiliki nilai ID (*identity*) di atas 85% (Tabel 4.2). Sementara itu, terdapat indikator lain yang dapat dijadikan penentu dalam pemilihan sekuen hasil BLAST yaitu E-value (nilai dugaan) dan *Query value*. Hasil BLAST sekuen ITS *D. macrantha* menghasilkan tingkat homologi pada setiap genus memiliki variasi tinggi, sehingga menunjukkan bahwa sekuen ITS pada *D. macrantha* mampu membedakan pada tingkat interspesies maupun intraspesies pada tingkat genus. Hal tersebut terjadi karena sekuen ITS memiliki tingkat mutasi tinggi yang disebabkan karena berada di daerah *non-coding*, sehingga terjadinya perubahan genetik melalui pindah silang ketika proses pembelahan sel berlangsung. Proses tersebut dapat menghasilkan

variasi genetik yang cukup banyak antar spesies (Cheng *et al.*, 2016).

Hasil BLAST sekuen ITS *D. macrantha* menunjukkan bahwa terdapat 2 sekuen yang memiliki tingkat homologi tertinggi yaitu *D. zibethinus* (MF629779.1) dan *D. zibethinus* (MW319979.1) dengan nilai E 0.0, nilai kueri diatas 80%, dan nilai ID 100% (Tabel 4.6). Nilai E mendekati 0, nilai kueri mendekati 100%, dan nilai ID diatas 97% menunjukkan bahwa sampel yang diidentifikasi signifikan dengan sampel yang diperoleh dari hasil BLAST. Pemilihan sekuen tersebut mengacu pada penelitian Baker (2018) yang menyatakan bahwa tingginya tingkat kemiripan yang diperoleh, maka tingkat homologi antar sekuen semakin tinggi.

4) Analisis *Multiple Aligment* sekuen ITS

Analisis *Multiple aligment* pada sekuen ITS menunjukkan bahwa sekuen *D. macrantha* dengan *D. zibethinus* (MW318979.1) dan *D. zibethinus* (AF233304.1) tidak memiliki nilai *gap* (100%) dari panjang sekuen 722 bp (MW318979.1) dan 688 bp (AF233304.1). Sementara itu, hasil *sequence aligment* menunjukkan sekuen *D. macrantha* dengan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) tidak ditemukan perbedaan nukleotida atau *gap*, namun sekuen *D. macrantha*

memiliki ukuran yang lebih panjang dibandingkan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) maupun *D. zibethinus* (AF233304.1). Hasil persejajaran sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) menunjukkan bahwa sekuen dapat tersejajarkan pada panjang basa 77-796 bp dan sekuen (AF233304.1) dapat tersejajarkan pada panjang basa 102-790 bp dari panjang sekuen *D. macrantha* 846 bp (*Consensus*) yang dapat dilihat pada Lampiran 6.

5) Analisis pohon filogenetik sekuen ITS

Pohon filogenetik merupakan salah satu cara untuk menggambarkan tingkat kekerabatan antar organisme yang didasarkan pada hubungan evolusi dalam bentuk pohon bercabang. Rekonstruksi pohon filogenetik sekuen ITS menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) yang berfungsi dalam menggambarkan hubungan antar spesies dengan baik karena terdapat pembatasan pada *clade* yaitu dengan membangun pohon filogenetik dengan pengabungan beberapa sekuen untuk dapat memberikan estimasi hasil paling baik pada panjang cabang terdekat dengan merefleksikan jarak yang nyata antar sekuen. Metode NJ juga menghasilkan tingkat akurasi yang tinggi pada pengukuran jarak antar sekuen yang dapat digunakan

dalam membangun pohon filogenetik dengan menggunakan beberapa model (Prasetya *et al.*, 2011; Pangestika, Anto, dan Hermin, 2015).

Model yang digunakan dalam analisis kontruksi pohon filogenetik sekuen ITS yaitu *Tamura-3 parameter* dan nilai *bootstrap* (pengulangan) sebanyak 1000 (Pangestika, Anto, dan Hermin, 2015). Menurut Hall (2008) nilai *bootstrap* sebanyak 100-1000 sering digunakan untuk dapat memperkirakan tingkat kepercayaan pohon filogenetik yang terbentuk, sehingga semakin tinggi nilai *bootstrap* maka tingkat kepercayaan terhadap pohon filogenetik yang terbentuk semakin tinggi. Sementara itu, pemilihan model *Tamura-3 parameter* dalam analisis kontruksi pohon filogenetik sekuen ini karena model ini dapat menyunting dengan mempertimbangkan perbedaan pada tingkat transisi dan transversi serta bias konten G+C. Sehingga laju evolusi yang diperoleh menggunakan model ini yaitu digambarkan dengan model distribusi gamma (Tamura, 1992).

Analisis rekonstruksi pohon filogenetik sekuen ITS menunjukkan posisi *D. macrantha* berada pada satu *clade* (cabang) utama dengan spesies *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D.*

zibethinus (AF233204.1). Cabang yang terbentuk antara *D. macrantha* dengan ke-3 sekuen *D. zibethinus* menunjukkan nilai *bootstrap* 98%. Sedangkan sekuen *D. zibethinus* (MF629779.1) berada pada *clade* yang berbeda, namun masih dalam garis nenek moyang yang sama dengan nilai *bootstrap* 97%. Pangestika *et al.* (2015) menyatakan bahwa tingkat kepercayaan suatu *clade* dapat dilihat berdasarkan nilai *bootstrap*-nya. Sehingga suatu *clade* dapat dipercaya jika menunjukkan nilai *bootstrap* diatas 90%, sedangkan suatu *clade* tidak dipercaya atau diragukan jika memiliki nilai *bootstrap* 25%. Hal tersebut dapat memberikan gambaran informasi bahwa *D. macrantha* dan *D. zibethinus* memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Sementara itu, penggunaan metode *Neighbor Joining* dengan parameter *Tamura-3* dapat memisahkan sekuen *Theobroma cacao* (JQ2288377.1). Sekuen *T. cacao* digunakan sebagai *outgroup* karena berasal dari *family* yang sama yaitu *Malvaceae*. Berdasarkan dari data yang diperoleh menunjukkan genus *T. cacao* memiliki data yang cukup lengkap dibandingkan genus lain (Teh *et al.*, 2017). Sehingga sekuen ITS dapat mendeterminasikan secara maksimal pada tingkat interspeises maupun intraspecies dengan melihat

adanya perbedaan pada daerah 5,8S (*conserved*) dan tingkat similaritas daerah ITS1 serta ITS2 (*variabel*) (Articus, 2004).

Analisis rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan sekuen ITS menunjukkan adanya pengelompokan berdasarkan hubungan antar taksa. Umumnya pengelompokan pohon filogenetik dibagi menjadi 3 kelompok yaitu monofiletik, parafiletik, dan polifiletik (Hermsen and Jonathan, 2019). Pohon filogenetik *D. macrantha* menggunakan sekuen ITS termasuk kedalam kelompok monofiletik. Monofiletik merupakan kelompok yang mencakup satu nenek moyang yang sama dengan keturunannya. Sehingga kelompok tersebut diduga membawa sifat atau pola genetik dengan perbedaan yang sedikit. Berdasarkan data pohon filogenetik yang dilihat dari panjang jarak evolusi menunjukkan bahwa spesies *D. macrantha* merupakan spesies primitif karena memiliki jarak evolusi panjang yang mengakibatkan proses evolusi lambat dibandingkan dengan spesies *D. zibethinus* yang memiliki jarak evolusi pendek sehingga mengakibatkan proses evolusi lebih cepat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Anafarida dan Badruzsaufari (2020) yang menyatakan bahwa spesies yang memiliki

jarak evolusi panjang tergolong kedalam kelompok primitif yang menunjukkan bahwa proses evolusi dalam waktu yang lama. Sedangkan untuk jarak pendek menunjukkan bahwa proses evolusi dalam waktu yang singkat atau cepat.

6) Analisis komposisi nukleotida pada sekuen ITS

Komposisi nukleotida digunakan untuk mengetahui tingkat kemiripan suatu spesies berdasarkan laju mutasi dan laju evolusi. Sehingga analisis ini dijadikan sebagai informasi dalam penentuan persamaan genetik dalam pengelompokan *clade* menggunakan pohon filogenetik. Jumlah komposisi nukleotida sampel DM (4697561) memiliki kesamaan dengan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1). Sementara itu, berdasarkan rata-rata presentase komposisi nukleotida terbanyak ditunjukkan oleh basa C (Sitosin) sebesar 36.7% dan basa G (Guanin) sebesar 32.0%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Kolter dan Gemeinholzer (2021) yang mengungkapkan bahwa sekuen ITS banyak mengandung nukleotida C dan G. Menurut Niu *et al.* (2017) gen yang memiliki komposisi nukleotida C dan G dalam jumlah yang banyak menunjukkan laju mutasi

terjaga dan tingkat rekombinasi lebih tinggi. Sehingga komposisi nukleotida yang terdapat pada sekuen memiliki rata-rata presentase yang berbeda sesuai dengan primer yang digunakan.

7) Analisis jarak genetik *Durio macrantha*

Jarak genetik bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar suatu spesies melalui perbedaan nukleotida dalam suatu spesies yang menggambarkan tingkat keragaman genetik. Nilai jarak genetik rendah pada suatu spesies menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan dekat, sedangkan nilai jarak genetik tinggi pada suatu spesies menunjukkan bahwa tingkat kekerabatan jauh (Gusmiaty *et al.*, 2017). Analisis jarak genetik yang dapat dilihat pada Lampiran menunjukkan bahwa sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1), *D. zibethinus* (MT230655.1), dan *D. zibethinus* (AF233204.1) memiliki jarak genetik yang sangat rendah, sehingga sekuen sampel DM (4697561) dengan tiga sekuen hasil BLAST memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat.

Berdasarkan pengamatan sekuen hasil BLAST tersebut berasal dari beberapa wilayah yaitu sekuen *D. zibethinus* (MW318979.1) dari Vietnam, *D. zibethinus*

(MT230655.1) dari Malaysia, dan *D. zibethinus* (AF233204.1) dari Sulawesi. Sehingga berdasarkan wilayah tersebut memperkuat bahwa sekuen sampel DM (4697561) dengan tiga sekuen hasil BLAST berkerabat dekat. Hal tersebut diperkuat dengan pendapat Gillespie *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa Pulau Jawa, Sumatra, Kalimantan, wilayah sekitar Filipina, dan semenanjung Malaysia pada waktu dahulu merupakan satu daratan besar yang tergabung. Sedangkan sekuen sampel DM (4697561) dengan sekuen *Theobroma cacao* (JQ228377.1) memiliki jarak genetik tinggi yang menunjukkan hubungan kekerabatan antar kedua sekuen tersebut sangat jauh dibandingkan sekuen lainnya.

Terdapat beberapa peneliti yang menyatakan bahwa spesies *D. macrantha* masuk kedalam spesies *D. zibethinus*. Hal tersebut disebabkan karena pada tahun 1992 hanya terdapat data morfologi, selain itu belum ada data lain untuk memperkuat seperti data molekuler yang menunjukkan bahwa *D. macrantha* merupakan spesies yang berbeda dengan *D. zibethinus*. Berdasarkan dari hasil rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan 2 sekuen menunjukkan posisi *D. macrantha* berdekatan dengan *D. zibethinus*. Oleh karena itu, penelitian *DNA Barcoding ini* merupakan penelitian awal untuk

menetapkan *D. macrantha* sebagai spesies yang berbeda dengan *D. zibethinus* atau merevisi *D. macrantha* sebagai sinonim dari *D. zibethinus*. Sinonim dalam taksonomi tumbuhan merupakan penamaan lebih dari satu nama ilmiah yang digunakan dalam satu takson yang sama karena kurangnya data molekuler (Hamidi *et al.*, 2019). Sehingga perlunya penelitian lebih lanjut menggunakan coding region lainnya seperti *trnH* – *psbA*, *trnL-F*, dan *matK*.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan analisis data penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakter morfologi yang diperoleh dari *D. macrantha* koleksi KRB yaitu organ vegetatif tumbuhan yaitu daun memiliki dua warna yang berbeda pada permukaan atas dan bawah, susunan daun berselang-seling, terdapat swollen pada bagian tangkai, tekstur permukaan batang kasar, arah pertumbuhan batang lurus dengan arah percabangan menyebar, dan bentuk tajuk piramida. Terdapat karakter khusus yang membedakan dengan tumbuhan pada genus lain yaitu adanya trikoma pada bagian bawah daun.
2. Profil sekuen *rbcL* *D. macrantha* menunjukkan panjang 563 bp dengan presentase komposisi nukleotida (banyak mengandung nukleotida T dan A) yang terdiri dari T: 27,9%, C: 21,7%, A: 27,9, G: 22,6 %.
3. Profil sekuen ITS *D. macrantha* menunjukkan panjang 846 bp dengan presentase komposisi nukleotida (banyak mengandung nukleotida G dan C) yang terdiri dari T:13,7%, C:37,3%, A:16,9%, G:32,2%. Sementara itu,

wilayah sekuen ITS pada *D. macrantha* yang diperoleh terbagi menjadi 3 yaitu ITS 1 dari panjang basa 103-392 bp, ITS 5,8 dari panjang basa 393-555 bp, dan ITS 2 dari panjang basa 556-790 bp.

B. Saran

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

1. Ekspedisi kembali diperlukan untuk dapat menemukan sampel *D. macrantha*, khususnya di habitat aslinya.
2. Riset mengenai karakteristik morfologi organ bunga, buah, biji dari sampel yang diperoleh dari hasil konservasi Kebun Raya Bogor.
3. Perlunya penelitian lebih lanjut mengenai *DNA Barcoding* dengan menggunakan coding region lain seperti *trnH* - *psbA*, *trnL-F*, dan *matK*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra, I. G. K. (2022). The Effect of Accumulation of Leaf Litters and Allelochemicals in the Soil to the Sustainability of the Newly Introduced Crop Plants. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 07(01), 1–14. <https://doi.org/10.22146/jtbb.65227>.
- Anafarida, O., dan Badruzsaufari. (2020). Analisis Filogenetik Mangga (*Mangifera* Spp.) Berdasarkan Gen 5,8S rRNA. *Ziraa'Ah*, 45(2), 120–126.
- Altschul, S. F. (1989). Gap Costs for Multiple Sequence Alignment. *Journal of Theoretical Biology*, 138(3), 297–309. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(89\)80196-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(89)80196-1).
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., and Lipman, D. J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- Aprilianingsih, R., Baiq, F. W., dan Muhammad, R. H. (2022). DNA Barcode of *Homalomena pexa* Inferred from Internal Transcribed Spacer Region. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 4(2), 69–74. <https://doi.org/10.26740/jrba>.
- Aprilianti, P. (2019). Konservasi Ex-situ *Durio* spp. Di Kebun Raya Bogor (Jawa Barat) dan Kebun Raya Katingan (Kalimantan Tengah). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indonesia*,

5, 123–128.

<https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050123>.

Arisuryanti, T., Wei, N. W. V., & Austin, C. (2016). Molecular Evidence for Determination Cryptic Species of Indonesian Swamp eel Populations Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). *AIP Conference Proceedings*, 1744(2016). <https://doi.org/10.1063/1.4953534>.

Ar-Rifa'i, M.N. (2000). *Kemudahan dari Allah: Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4 (Surah ash-Shaaffat - an-Naas*. Gema Insani. Available at: https://www.google.co.id/books/edition/Kemudahan_dari_Allah/QJSr9ajKXZ0C?hl=id&gbpv=1&dq=tafsir+ibn+katsir&printsec=frontcover. (Diakses: 24 November 2022).

Articus, K. (2004). *Neuropogon* and The Phylogeny of *Usnea* s.l. (Parmeliaceae, Lichenized Ascomycetes). *Taxon*, 53(4), 925–934. <https://doi.org/10.2307/4135560>.

Baker, S. (2018). Using DNA Barcoding To Identify Duckweed Species as Part of an Undergraduate Ecology Course. In *ACS Symposium Series* (pp. 67–79). <https://doi.org/10.1021/bk-2018-1276.ch005>.

Basith, A. (2015). Peluang Gen *rbcl* Sebagai DNA Barcode Berbasis DNA Kloroplas Untuk Mengungkap Keanekaragaman Genetik Padi Beras Hitam (*Oryza sativa*

- L.) Lokal Indonesia. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS, October*, 938–941.
- Board, J. E. (2013). *A Comprehensive e Survey of International Soyabean Resarch - Genetics, Physiology, Agronomy, and Nitrogen Relationships*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/45867>.
- Capriyati, R., dan Tohari, D. K. (2014). Pengaruh Jarak Tanam dalam Tumpangsari Sorgum Manis (*Sorghum bicolor* L. Moench) dan Dua Habitus Wijen (*Sesamum indicum* L.). *Vegetalika*, 3(3), 49–62.
- CBOL. (2009). A DNA Barcode for Land Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12794–12797. (<https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106>, diakses 25 Agustus 2022).
- Cheng, T., Chao, X., Li Lei, Changhaoli, L., YU, Z., and Shiliang, Z. (2016). Barcoding The Kingdom Plantae: New PCR Primers for ITS Regions of Plants With Improved Universality and Specificity. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 138–149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>.
- Cheng, F., and Cheng, Z. (2015). Research Progress on The use of Plant Allelopathy in Agriculture and The Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. *Frontiers in*

- Plant Science*, 1–16.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01020>.
- Corpuz, T. A., Songpol, S., Salma, I., and Bhag, M. (2007). *Descriptors for Durian (Durio zibethinus Murr.)*. Bioversity International.
- Dairawan, M., and Preetha, J. S. (2020). The Evolution of DNA Extraction Methods. *American Journal of Biomedical Science and Research*, 8(1), 39–45.
<https://doi.org/10.34297/ajbsr.2020.08.001234>.
- Dehorta, A. (2020). *Discovering Genotypes Through Gel Electrophoresis*. Biomedical Reaserch. (<https://youthmedicaljournal.org/2020/07/07/discovering-genotypes-through-gel-electrophoresis/>, diakses 25 Agustus 2022).
- Departemen Agama RI. (2011). *Al Quran Dan Tafsirnya* (yang Disempurnakan). Departemen Agama RI 7 Widya Cahaya.
- De Queiroz, K. (2007). Toward an Integrated System of Clade Names. *Systematic Biology*, 56(6), 956–974.
<https://doi.org/10.1080/10635150701656378>.
- DeSalle, R., and Goldstein, P. (2019). Review and Interpretation of Trends in DNA Barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(September), 1–11.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00302>.
- Devi, P. M., Madhumita, D., Sansuta, M., Susheel, K. S., Viviek, H.,

- Subhra, S. R., Renny, R., Kinathi, B. K., Hitendra, K. P., and Manas, R. S. (2022). DNA Barcoding and ITS2 Secondary Structure Predictions in Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) from The North Eastern Hill Region of India. *Genes*, *13*, 1–13.
- Eidhammer, I., Janassen, I., and Taylor, W. R. (2004). *Protein Bioinformatics: an Algorithmic Approach to Sequence and Structure Analysis*. Wiley.
- Eggl, U. (2002). *Illustrated Handbook of Succulent Plants: Dicotyledons* (1st ed.). Springer. (https://www.google.co.id/books/edition/Illustrated_Handbook_of_Succulent_Plants/ffBRAYZLuh0C?hl=id&gbpv=1&dq=swollen+is+durio&pg=PA48&printsec=frontcover, diakses 05 April 2023).
- Ellis, B., Douglas, C. D., Leo, J. H., Kirk, R. J., John, D. M., Peter, W., and Scott, L. W. (2009). Manual of Leaf Architecture. In *Systematic Botany* (First, Vol. 34, Issue 4). Cornell University Press. <https://doi.org/10.1600/036364409790139682>.
- Erwyansyah, ., Wardiatno, Y., Kurnia, R., & Butet, N. A. (2018). Kepastian Taksonomi Dan Sebaran Belangkas *Tachypleus tridentatus* Leach 1819 Di Perairan Balikpapan Timur. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, *10*(3), 547–559. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v10i3.21917>.

- Fikri, A. N. (2022). *Bioteknologi dan Penerapannya dalam Penelitian dan Pembelajaran Sains*. PT. Nasya Expanding Management.
- Fuad, A. R. M., Ulfan, I., dan Kurniawan, F. (2016). Penggunaan Agar-Agar Komersial Sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2), 2337–3520.
- Fujita, H., and Mochizuki, A. (2006). *The Origin of the Diversity of Leaf Venation Pattern*. 2710–2721. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20908>.
- GBIF. (2021). *Durio macrantha* Kosterm. (<https://www.gbif.org/species/4073099>, diakses 3 November 2022).
- Giasuddin, A. S. M. (1995). Polymerase Chain Reaction Technique: Fundamental Aspects and Applications in Clinical Diagnostics. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 8(1), 29–32.
- Gillespie, G., Rosemary, and Clague, A. (2009). *Encyclopedias of The Natural World: Encyclopedia of Islands*. University of California Press.
- Gusmiaty, G., Restu, M., Asrianny, A., dan Larekeng, S. H. (2017). Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik Pinus merkusii di Hutan Pendidikan Unhas. *Jurnal*

- Natur Indonesia*, 16(2), 47–53.
<https://doi.org/10.31258/jnat.16.2.47-53>.
- Hall, G. B. (2008). *Phylogenetic Trees Made Easy: A How-to Manual*. In *Systematic Biology* (Third, Vol. 57, Issue 4). Sinauer Associates.
<https://doi.org/10.1080/10635150802303458>.
- Hamidi, A., Kusumadewi, S. Y., Titi, K., dan Agusti, R. (2019). *Strategi Konservasi 12 Spesies Pohon Prioritas Nasional 2019-2029* (Pertama). LIPI Press.
<http://www.penerbit.lipi.go.id/data/naskah1579058439.pdf>.
- Handoyo, D., dan Rudiretna, A. (2001). Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*, 9(1), 17–29.
- Hariri, R. M., Iyan, R., Dipta, S. R., Dodo, Desi, S. S., Cecep, H. S., and Bayuntoro, A. (2022). DNA Barcoding of *Vatica bantamensis*, A Critically Endangered Tree Endemic to Banten, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*, 2462(1).
<https://doi.org/https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/5.0075529>.
- Hartatik, T. (2021). *Analisis Genetika Molekuler Sapi Madura*. Gadjah Mada University Press.
https://www.google.co.id/books/edition/Analisis_Genetika_Molekuler_Sapi_Madura/U11TDwAAQBAJ?hl=id&gbp

v=1&dq=sekuensing+dna+adalah&pg=PA58&printsec=frontcover, diakses 7 November 2022).

- Hayata, H., Nursanti, I., dan Kriswibowo, P. (2020). Pengaruh Jarak Tanam Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq). *Jurnal Media Pertanian*, 5(1), 22–26. <https://doi.org/10.33087/jagro.v5i1.92>.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., and DeWaard, J. R. (2003). Biological Identifications Through DNA Barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- Hermesen, E. J., and Jonathan, R. H. (2019). *Phylogenetic Tress and Classification*. Digital Atlas of Ancient Life: Paleontological Research Institution. <https://www.digitalatlasofancientlife.org/learn/systematics/phylogenetics/trees-classification/>.
- Hickey, L. J. (1973). Classification of the Architecture of Dicotyledonous Leaves. *American Journal of Botany*, Vol 60, No 1, pp. 17-33. Stable URL : <http://www.jstor.American Journal of Botany>, 60(1), 17–33.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., and Little, D. P. (2011). Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE*, 6(5), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>.

- Hubert, N., and Hanner, R. (2016). DNA Barcoding, Species Delineation and Taxonomy: a Historical Perspective. *DNA Barcodes*, 3(1). <https://doi.org/10.1515/dna-2015-0006>.
- Iqbal, M., Ibnu, D. B., dan Nia, K. (2016). Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, VII(1), 54–65.
- Kimura, M. (1980). A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120. <https://doi.org/10.1007/BF01731581>.
- Kishor, R., and Devi, H. S. (2009). Induction of Multiple Shoots in a Monopodial Orchid Hybrid (*Aerides vandarum* Reichb.f × *Vanda stangeana* Reichb.f) Using Thidiazuron and Analysis of Their Genetic Stability. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 97(2), 121–129. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9506-1>.
- Kolter, A., and Gemeinholzer, B. (2021). Internal Transcribed Spacer Primer Evaluation for Vascular Plant Metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics*, 5, 133–152. <https://doi.org/10.3897/MBMG.5.68155>.
- Kostermans, A. J. G. . (1958). The genus *Durio adans.* (Bombac.). *Reinwardtia* (Vol. 4, Issue 3, pp. 47–153).

- Kostermans, A. J. G. H. (1992). An Important Economical New *Durio* Species from Northern Sumatra. *Economic Botany*, 46(3), 338–340. <http://www.jstor.org/stable/4255452>.
- Kress, W. J., and Erickson, D. L. (2007). A Two-locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcL* Gene Complements The Non-coding *trnH-psbA* Spacer Region. *PloS One*, 2(6), e508. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Chih-Yuan, H., and Yong, H. K. (2012). Agarose Gel Electrophoresis for The Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*, 62. <https://doi.org/10.3791/3923>.
- Liunokas, A. B., dan Agsen, H. S. B. (2021). *Karakterisasi Morfologi Tumbuhan* (Pertama). Deepublish.
- Miralles, L., Moran, P., Dopico, E., and Garcia-Vazquez, E. (2013). DNA Re-Evolution: A game for Learning Molecular Genetics and Evolution. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 41(6), 396–401. <https://doi.org/10.1002/bmb.20734>.
- Mursyidin, D. H. (2022). Phylogenetic Relationship of Superior Durian (*Durio zibethinus*) Cultivars Native to South Kalimantan, Indonesia. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 52, 1–13. <https://doi.org/10.1590/1983-40632022v5272568>.

- Muslih, A. M., Manalu, Y. H. B., Arlita, T., Moulana, R., and Anhar, A. (2022). Inventory of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. in Lae Kombih Forest Park Area, Subulussalam. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 951(1), 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/951/1/012089>.
- Niu, Z., Xue, Q., Wang, H., Xie, X., Zhu, S., Liu, W., and Ding, X. (2017). Mutational Biases and GC-Biased Gene Conversion Affect GC Content in The Plastomes of *Dendrobium Genus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms18112307>.
- Novitasari, D. A., Roza, E., dan Dewi, I. R. (2014). Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Total Pada *Kryptopterus apogon* (Bleeker 1851) dari Sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir Kabupaten Kampar Provinsi Riau. *JOM FMIPA*, 1(2), 258–261.
- Nurhasanah, Sundari, & Papuangan, N. (2019). Amplification and Analysis of *rbcl* Gene (Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase) of Clove in Ternate Island. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 276(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/276/1/012061>
- Octavia, D., Arnia, S. M., Irfan, M., Mimin, Ma'mun, S., dan Herman, R. (2021). Isolasi DNA Tumbuhan Hasil Eksplorasi di Nusakambangan dengan Metode Kit di

- Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor. *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*, 7, 291–299. <https://journal3.uinalauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/24513>.
- Pangestika, Y., Anto, B., dan Hermin, P. K. (2015). Analisis Filogenetik *Curcuma zedoria* (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Biologi*, 4(4), 8–13.
- POWO. (2022). *Durio macrantha* Kosterm. Royal Botanic Gardens KEW: Plants of The World Online. (<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:960814-1>, diakses 3 Maret 2023).
- Pratiwi, N., Diana, S. H., dan Luthfi, A. M. S. (2009). Identifikasi Karakter Morfologis Durian (*Durio zibethinus* Murr) Di Kecamatan Tigalingga dan Pengagan Hilir Kabupaten Dairi Sumatra Utara. *Jurnal Agroteknologi FP USU*, 6(2), 200–208.
- Prihanto, A. A., dan Abdul, A. J. (2019). *Bioteknologi Perikanan Dan Kelautan* (Pertama). UB Press. (https://www.google.co.id/books/edition/Bioteknologi_Perikanan_dan_Kelautan/hHPcDwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=isolasi+dna&pg=PA151&printsec=frontcover, diakses 8 November 2022).

- Priyanti, P., Chikmawati, T., Sobir, S., and Hartana, A. (2015). Leaf Trichome Morphology of *Durio Kutejensis* Landraces from Kalimantan. *Makara Journal of Science*, 19(1), 37–42. <https://doi.org/10.7454/mss.v19i1.4588>.
- Purnobasuki, H., Rakhashiwi, G. A., Junairiah, Wahyuni, D. K., Putra, R. E., Raffiudin, R., and Soessilohadi, R. H. (2022). Morpho-anatomical Characterization and DNA Barcode of *Cosmos caudatus* Kunth. *Biodiversitas*, 23(8), 4097–4108. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230830>.
- Purty, R., and Chatterjee, S. (2016). DNA Barcoding: An Effective Technique in Molecular Taxonomy. *Austin J Biotechnol Bioeng*, 3(3), 1059–1.
- Rahman, W. (2021). *Durio macrantha*. The IUCN Red List of Threatened Species. (<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20212.RLTS.T139572994A139572997.en>., diakses 3 Maret 2023).
- Ramdhini, D. W., dan Jannah, M. (2021). Analisis Filogenetik Anggrek *Dendrobium* Berdasarkan Sekuen ITS rDNA. *Bio-Sains: Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(1), 8–12.
- Redyono, dan Asruni. (2020). Prospek Pengembangan Budidaya Durian (*Durio zibethius* Murray) Di Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. *Kindai*, 16(2), pp. 342–352.
- Reece J.B., Campbell, dan Mitchell, L. G. (2005). *Biologi Jilid 3* (A.

- Safitri (ed.); 3rd ed.). Erlangga. (https://www.google.co.id/books/edition/Biologi_Jl_3_Ed_5/x900phMNmxwC?hl=id&gbpv=1, diakses 8 November 2022).
- Salma. (1999). The Taxonomic Significance of Trichome Morphology in the Genus *Durio* (Bombaceae). *Garden's Bulletin Singapore*, 51, 55–70.
- Sasmito, D. E. K., Rahadian, K., dan Izzati, M. (2014). Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Informatika Medis*, 93–102. <http://snimed.fit.uui.ac.id/>.
- Shazwan. K.S., Rozilawati, S., Che Nurul, C. A., Muhammad, z. g., dan Rusea, G. (2020). Trichome morphology of *Durio zibethinus* L. *Malaysian Journal of Microscopy*, 16(1), 196–204.
- Singh, B. P., and Vijai, K. G. (2016). *Molecular Markers in Mycology: Diagnostics and Marker Developments*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-34106-4>.
- Sugiyanta, & Aziz, dan S. A. (2016). Beras dan Tanaman Pangan Organik Lainnya. *Pengembangan Pertanian Organik di Indonesia* (Pertama, Issue 3). IPB Press.
- Sun, Y., Skinner, D. Z., Liang, G. H., and Hulbert, S. H. (1994). Phylogenetic Analysis of Sorghum and Related Taxa Using

- Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, 89(1), 26–32.
<https://doi.org/10.1007/BF00226978>.
- Sunaryo, W. (2015). Aplikasi DNA Barcoding Untuk Analisis Keragaman Genetik Lai-durian (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) Asal Kalimantan Timur. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 1273–1277.
<https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010602>
- Sundari, Wahyudi, D., Arumingtyas, E. L., Hakim, L., and Azrianingsih, R. (2019). Assessment for Identification of *Genus Durio* spp. from North Maluku Indonesia Using Three Barcode DNA. *Malaysian Applied Biology*, 48(5), 77–87.
- Susilawati, & Sabran, M. (2018). Karakterisasi Morfologi Durian (*Durio zibethinus*) Lokal Katingan Regency. *Buletin Plasma Nutfah*, 24(2), 107–114.
- Syafaruddin, Randriani, E., dan Santoso, T. J. (2011). Efektivitas dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Pada Jambu Mete. *J Ristri*, 2(2), 151–160.
- Syaifudin, M. (2021). Gel electrophoresis: The applications and its improvement with nuclear technology. *AIP Conference Proceedings*, 2331(April).
<https://doi.org/10.1063/5.0042067>.
- Tamura, K. (1992). Estimation of The Number of Nucleotide

- Substitutions when There are Strong Transition-Transversion and G+C-Content Biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9(4), 678–687. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752>.
- Teh, B. T., Lim, K., Yong, C. H., Ng, C. C. Y., Rao, S. R., Rajasegaran, V., Lim, W. K., Ong, C. K., Chan, K., Cheng, V. K. Y., Soh, P. S., Swarup, S., Rozen, S. G., Nagarajan, N., and Tan, P. (2017). The Draft Genome of Tropical Fruit Durian (*Durio zibethinus*). *Nature Genetics*, 49(11), 1633–1641. <https://doi.org/10.1038/ng.3972>.
- Thorogood, J., C., Mohd, N. G., Mat Yunoh, S. M., Dome, N., Yayan, W. C. K., Sudarmono, S., and Joko, R. W. (2022). The King of Fruits. *Plants People Planet*, 1–10. <https://doi.org/10.3406/caoum.1992.3449>.
- Tjitrosoepomo, G. (1985). *Morfologi Tumbuhan* (Pertama). Gadjah Mada University Press.
- Tozin, L. R. D. S., Stefany, C. D. M. S., and Tatiane, M. R. (2016). Non-glandular Trichomes in *Lamiaceae* and *Verbenaceae* Species: Morphological and Histochemical Features Indicate More Than Physical Protection. *New Zealand Journal of Botany*, 54(4), 446–457. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2016.1205107>.
- Vanfleteren, J. R., & Vierstraete, A. R. (1999). Insertional RNA

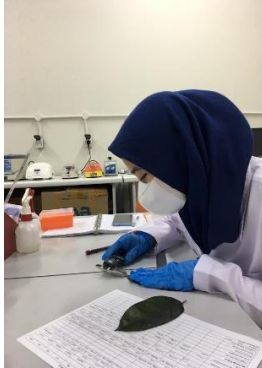
- Editing in Metazoan Mitochondria: The Cytochrome b Gene in The Nematode *Teratocephalus lirellus* [3]. *RNA-A Publication of The RNA Society*, 5(5), 622–624. <https://doi.org/10.1017/S135583829999009X>.
- Vere, N. De, Rich, T. C. G., Trinder, S. A., & Long, C. (2015). DNA Barcoding for Plants. *Methods in Molecular Biology*, 1245(January), 101–118. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_8.
- Visitia, D., Indah, K., Biologi, J., Matematika, F., Alam, P., dan Sepuluh, I. T. (2013). Studi Potensi Bioherbisida Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap Gulma Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). *Jurnal Sains Dan Seni POMITS*, 2(2), 59–63.
- Wahyu, P. (2017). Jenis-Jenis Sel Sekretori pada Tumbuhan Jeruk Keprok Siam (*Citrus nobilis*). *Pendidikan Biologi FKIP*, 1(1), 1–6.
- WFO. (2022). *Durio macrantha* Kosterm. The World Flora Online. (<http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000658078>, diakses 13 November 2022).
- Zein, Syamsul, A., dan Prawiladilaga, Dewi, M. (2013). *DNA Barcode Fauna Indonesia (Pertama)*. Kencana.

LAMPIRAN

Gambar Lampiran 1. Dokumentasi penelitian



Pengambilan sampel



Pengamatan morfologi



Ekstraksi DNA



Proses PCR



Elektroforesis



Visualisasi pita DNA

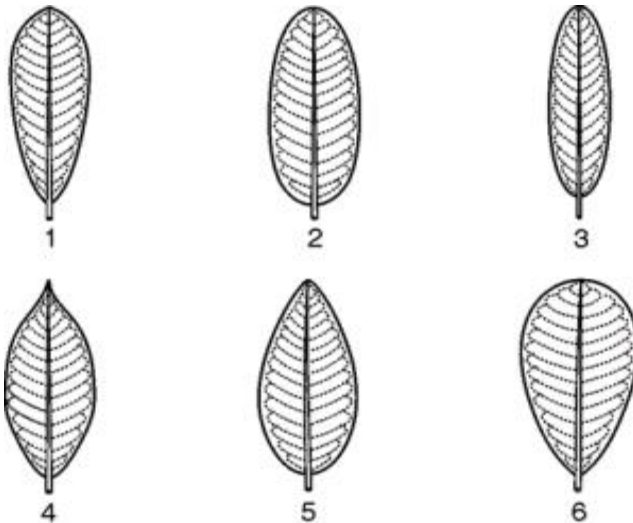
Lampiran 2. Parameter karakterisasi morfologi

Parameter karakterisasi morfologi daun

Bentuk bilah daun

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 1

1. Membundar telur sungsang - Melanset
2. Melonjong
3. Membundar-Linear
4. Elips
5. Membundar telur
6. Membundar telur sungsang
7. Lainnya

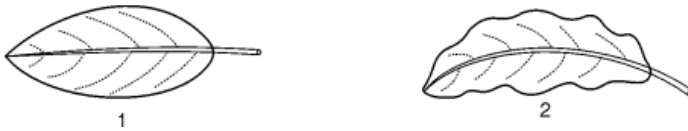


Gambar Lampiran 2. Bentuk bilah daun

Tepi daun

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 3

1. Rata
2. Bergelombang



Gambar Lampiran 3. Tepi daun

Panjang daun (cm)

Pengamatan diukur dari pangkal daun sampai ujung daun

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

Lebar daun (cm)

Pengamatan diukur pada titik terlebar

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

Kondisi tangkai

1. Biasa

2. Terdapat swollen

Warna daun atas

3. Hijau muda
4. Hijau
5. Hijau tua
6. Hijau kecoklatan
7. Lainnya

Warna daun bawah

1. Coklat keperakan
2. Coklat tembaga
3. Lainnya

Tekstur daun

1. Tipis
2. Kasar
3. Sangat kasar

Kilapan daun permukaan atas

1. Tidak mengkilap
2. Mengkilap

Kilapan daun permukaan bawah

1. Tidak mengkilap
2. Mengkilap

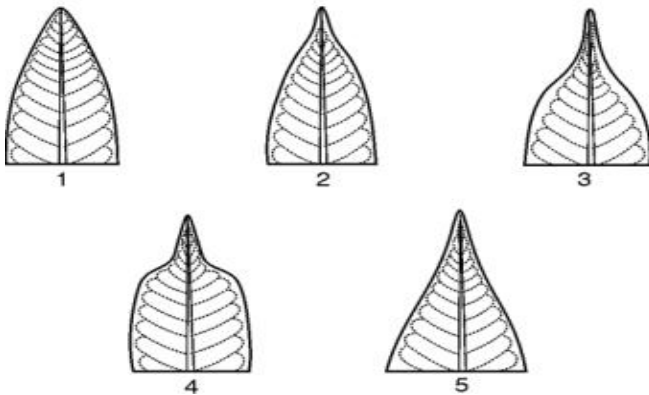
Lilin pada daun adaksial

1. Kusam
2. Berkilau

Bentuk ujung daun

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 3

3. Meruncing
4. Melancip
5. Melancip panjang
6. Berekor
7. Bertaring
8. Lainnya



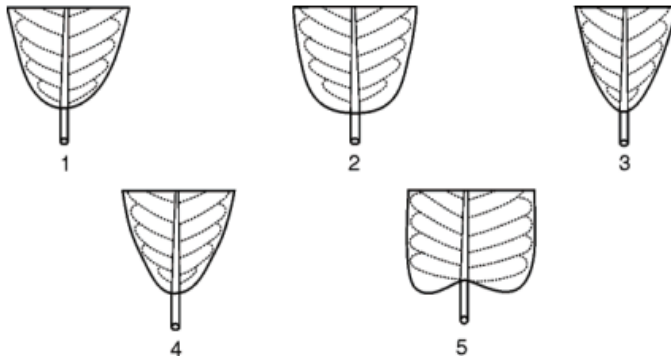
Gambar Lampiran 4. Bentuk ujung daun

Bentuk pangkal daun

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 4

4. Bulat
5. Tumpul
6. Meruncing

7. Runcing
8. Menjantung
9. Lainnya

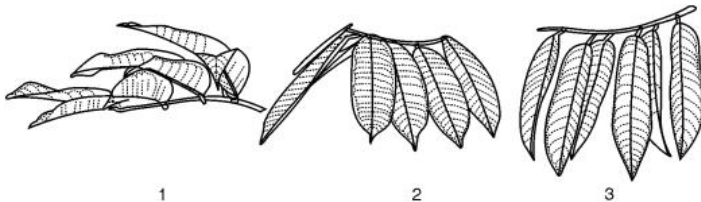


Gambar Lampiran 5. Bentuk pangkal daun

Sikap daun

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 5

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



Gambar Lampiran 6. Sikap daun

Susunan daun

1. Berselang-seling
2. Berhadapan

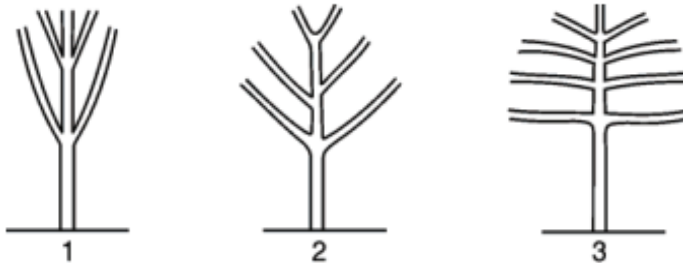
Parameter karakterisasi morfologi batang**Tinggi pohon (m)**

Pengamatan dilakukan dari permukaan tanah sampai pucuk pohon.

Arah percabangan

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 6

1. Tegak
2. Menegah
3. Menyebar
4. Lainnya



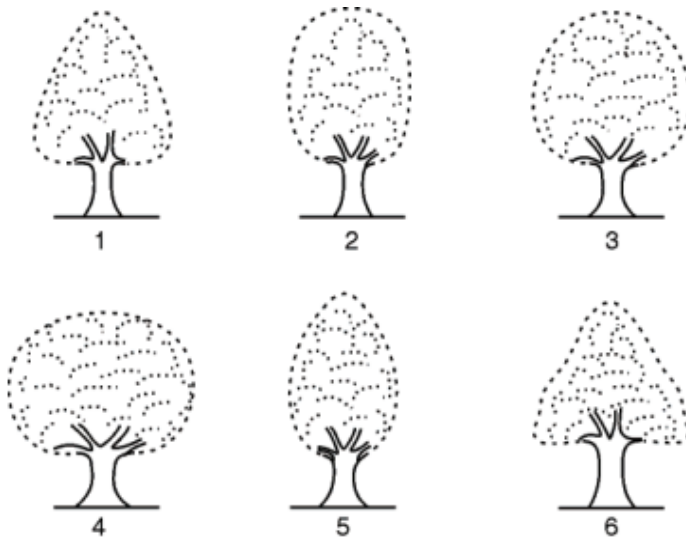
Gambar Lampiran 7. Arah percabangan

Bentuk tajuk

Pengamatan dapat dilihat pada Gambar Lampiran 7

1. Piramida

2. Lonjong
3. Bulat
4. Setengah lingkaran
5. Elips
6. Tidak teratur
7. Lainnya



Gambar Lampiran 8. Bentuk tajuk

Warna kulit batang

1. Abu-abu
2. Coklat
3. Coklat tua
4. Lainnya

Diameter batang (mm)

Pengamatan dilakukan dari ketinggian 50 cm di atas permukaan tanah.

Tekstur kulit pada permukaan batang

1. Halus
2. Kasar
3. Sangat kasar
4. Bersisik

Kebiasaan pertumbuhan batang

5. Lurus
6. memutar

Gambar Lampiran 9. Warna daun *Durio macrantha* 86 a



Gambar Lampiran 10. Warna daun *Durio macrantha* 86 b



Lampiran 11. Hasil *contig* sekuen *rbcL*

ACTAAAGCAAGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGAGTATA
AATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAGTCAAAGATACTGAT
ATCTTGGCAGCCTTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGAGTTCGGCCC
GAGGAAGCAGGGGCAGCAGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTAC
ATGGACAACCGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGATCGTT
ACAAAGGGCGATGCTACCACATTGAGCCCCTTGCTGGAGAAGAA
AATCAATATATATGTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGA
AGAAGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATG
TATTTGGGTTCAAAGCCCTGCGCGCTCTACGTCTAGAGGATCTG
CGAATCCCTCCTTCTTATACTAAAACCTTCCAAGGCCCGCCTCA
TGGCATCCAGGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAGTACGGTCGCC
CCCTATTAGGATGTACTATTAACCTAAATTGGGGTTATCCGCT
AAGAACTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTACG

Lampiran 12. Hasil *contig* sekuen ITS

CCGCCGCCCGCGACGTGCGGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATT
TAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGTTTTCCGTAGGTGAACCT
GCGGAAGGATCATTGTGCGAAACCCCGCTCGACGGACGCCCGG
GACGCGTTAACGAAACACCGAGGGGGCGGGGGTGCCCCGCGCC
CCGAGCCCCCTCCGGCCCAGGGAGGGCGCGACGGTCGCTTCGTCC
CCCCTACGGGGCGGGCGGAACGATCGGCGTTCGTCGCCCTCCGC
CGAACAACGAACCCCGGCGGAATCGCGCCAAGGAACCGAAAC
GAAAACGGAGCGCGCGCGCCGTGCCATCCCGTCCGCGGTGCGT
GCGCGGGCGGCCGCGACTCCTTTTGTGCGGAAAAACGAAACG

ACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACG
TAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAAC
CATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCAAGCCATTAGGCCG
AGGGCACGCCTGCCTGGGTGTCATGCACCGTCGCCCCCCTCCGA
CCCCCGCCCTCCGGGCTCCGGGGGAAGGGGGCGGGCGGAAGAT
GGCCTCCCGCGATCCCGTGGGTCGCGGTTGGCCAAAAGCGAGT
CCCCGGCAACGACAGCGCCGTGACCGTCGGTGGTGGAGTCCCG
GCGTGCCTCGTCCCCGGTGACGCGCGCTCGTTGTCCATCCGGACC
CCTTCGGACCCCCGCATCGCTCGATCGATGCTCGCGTCGCGACC
CCAGGTCAGGCGGGATCACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAA
GCGGAG

Tabel Lampiran 1. Analisis hasil BLAST sekuen *rbcL*

NO	Nama Ilmiah	Jumlah Sekuen
1.	<i>Durio zibethinus</i>	49
2.	<i>Durio dulcis</i>	2
3.	<i>Durio oxleyanus</i>	3
4.	<i>Durio kutejensis</i>	5
5.	<i>Durio lowianus</i>	3
6.	<i>Durio testudinarius</i>	1
7.	<i>Durio excelsus</i>	2
8.	<i>Durio sp.</i>	4
9.	<i>Magnoliophyta sp.</i>	1
10.	<i>Heritiera fomes</i>	3
11.	<i>Heritiera littoralis</i>	4
12.	<i>Heritiera parvifolia</i>	2
13.	<i>Heritiera angustata</i>	2
14.	<i>Bombax ceiba</i>	3
15.	<i>Bombax buonopozense</i>	1
16.	<i>Tilia amurensis</i>	2
17.	<i>Tilia maximowicziana</i>	1
18.	<i>Tilia mongolica</i>	1
19.	<i>Tilia japonica</i>	1
20.	<i>Tilia americana</i>	1
21.	<i>Tilia cordata</i>	1
22.	<i>Spirotheca rivieri</i>	1
23.	<i>Pseudobombax sp.</i>	1

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

NO	Nama Ilmiah	Jumlah Sekuen
24.	<i>Ceiba rubriflora</i>	1
25.	<i>Franciscodendron laurifolium</i>	1
26.	<i>Ochroma pyramidale</i>	1
27.	<i>Brachychiton acerifolius</i>	1
28.	<i>Firmiana hainanensis</i>	1
Jumlah		100

Tabel Lampiran 2. Analisis hasil BLAST sekuen ITS

NO	Nama Ilmiah	Jumlah Sekuen
1.	<i>Durio zibethinus</i>	56
2.	<i>Durio graveolens</i>	11
3.	<i>Durio lowianus</i>	2
4.	<i>Durio dulcis</i>	3
5.	<i>Durio grandiflorus</i>	2
6.	<i>Durio oxleyanus</i>	2
7.	<i>Durio carinatus</i>	1
8.	<i>Durio kutejensis</i>	3
9.	<i>Durio lanceolatus</i>	1
10.	<i>Durio oblongus</i>	2
11.	<i>Durio testudinarium</i>	2
12.	<i>Durio affinis</i>	1
13.	<i>Durio beccarianus</i>	2
14.	<i>Durio singaporensis</i>	1
15.	<i>Durio griffithii</i>	4
16.	<i>Kostermansia malayana</i>	1
17.	<i>Cullenia rosayroana</i>	1
18.	<i>Cullenia ceylanica</i>	2
19.	<i>Neesia purpurascens</i>	1
Jumlah		100

Tabel Lampiran 3. Jarak genetik sekuen *rbcL*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MF139708.1 <i>Durio</i> <i>zibethinus</i>										
MZ479694.1 <i>Durio</i> <i>zibethinus</i>	0,0000									
LC730078.1 <i>Durio</i> <i>zibethinus</i>	0,0000	0,0000								
MZ479692.1 <i>Durio</i> <i>kutejensis</i>	0,0000	0,0000	0,0000							
MZ479689.1 <i>Durio</i> <i>oxleyanus</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000						
MZ479687.1 <i>Durio</i> <i>dulcis</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000					
MZ479685.1 <i>Durio</i> <i>testudinarius</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000				
MZ479682.1 <i>Durio</i> <i>excelsus</i>	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018	,0018		
GQ981898.1 <i>Theobroma cacao</i>	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	0,0625	,0625	0,0646		
4697557 <i>Durio</i> <i>macrantha</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	,0000	0,0018	0,0625	

Tabel Lampiran 3. Jarak genetik sekuen ITS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MF629779.1: <i>Durio zibethinus</i>										
MW318979.1: <i>Durio zibethinus</i>	0,0000									
AF233304.1: <i>Durio zibethinus</i>	0,0000	0,0000								
ON817266.1: <i>Durio zibethinus</i>	0,0171	0,0171	0,0171							
MT230655.1: <i>Durio zibethinus</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0171						
MT230661.1: <i>Durio graveolens</i>	0,0149	0,0147	0,0147	0,0235	0,147					
AF287718.1: <i>Durio graveolens</i>	0,0149	0,0148	0,0148	0,0235	0,0148	0,0000				
MF629765.1: <i>Durio graveolens</i>	0,0149	0,0222	0,0222	0,0235	0,0222	0,0073	,0073			
AF287717.1: <i>Durio kutejensis</i>	0,0240	0,0238	0,0238	0,0317	0,0238	0,0118	,0103	0,0192		
MF629750.1: <i>Durio kutejensis</i>	0,0711	0,0769	0,0769	0,0797	0,0769	0,0655	,0640	0,0687	0,0609	

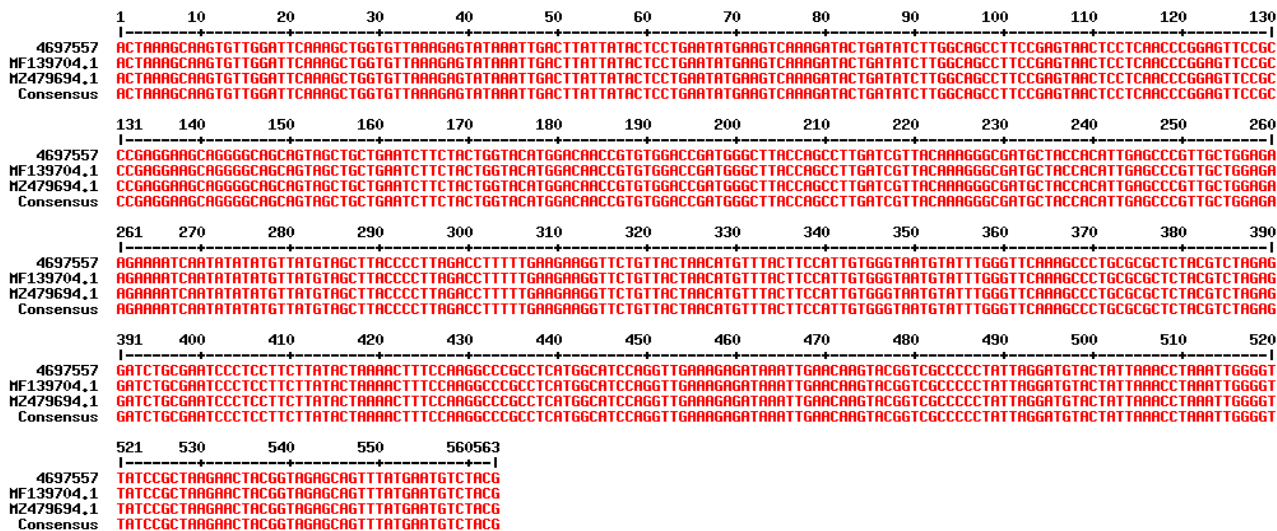
Tabel Lampiran 3. Lanjutan

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MT230666.1: <i>Durio griffithii</i>	0,0904	0,0962	0,0962	0,0967	0,0962	0,0962	0,0963	0,0961	0,0997	0,1536
AF233310.1: <i>Durio griffithii</i>	0,0870	0,0929	0,0929	0,0967	0,0929	0,0928	0,0929	0,0927	0,0963	0,1499
AF287714.1: <i>Durio dulcis</i>	0,0104	0,0103	0,0103	0,0203	0,0103	0,0073	0,0073	0,0147	0,0133	0,0672
AF287712.1: <i>Durio oxleyanus</i>	0,0164	0,0162	0,0162	0,0283	0,0162	0,0132	0,0132	0,0207	0,0223	0,0735
AF287708.1: <i>Durio carinatus</i>	0,0239	0,0237	0,0237	0,0363	0,0237	0,0177	0,0177	0,0252	0,0268	0,0817
AF287707.1: <i>Durio beccarianus</i>	0,0863	0,0922	0,0922	0,0961	0,0922	0,0836	0,0821	0,0835	0,0887	0,1448
AF287705.1: <i>Durio affinis</i>	0,0897	0,0955	0,0955	0,0905	0,0955	0,0852	0,0838	0,0852	0,0887	0,1432
AF287701.1: <i>Durio singaporensis</i>	0,0896	0,0954	0,0954	0,0959	0,0954	0,0851	0,0837	0,0851	0,0903	0,1448
JQ228377.1: <i>Theobroma cacao</i>	0,5899	0,5899	0,5899	0,5593	0,5899	0,5999	0,6013	0,5999	0,6007	0,6521
4697561 <i>Durio macrantha</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0171	0,0000	0,0147	0,0148	0,0222	0,0238	0,0769

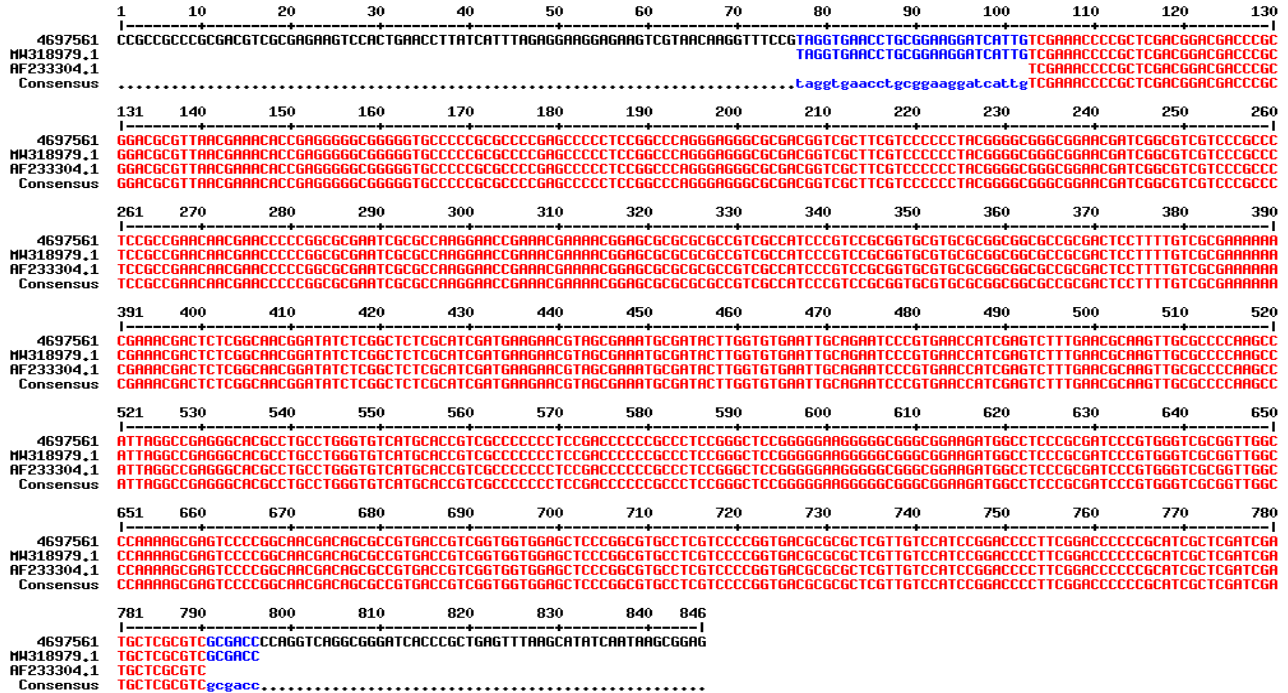
Tabel Lampiran 3. Lanjutan

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
MT230666.1: <i>Durio griffithii</i>										
AF233310.1: <i>Durio griffithii</i>	0,0059									
AF287714.1: <i>Durio dulcis</i>	0,0964	0,0931								
AF287712.1: <i>Durio oxleyanus</i>	0,0996	0,0944	0,0118							
AF287708.1: <i>Durio carinatus</i>	0,0944	0,0910	0,0192	0,0222						
AF287707.1: <i>Durio beccarianus</i>	0,0959	0,0925	0,0838	0,0902	0,0820					
AF287705.1: <i>Durio affinis</i>	0,0925	0,0891	0,0855	0,0919	0,0837	0,0343				
AF287701.1: <i>Durio singaporensis</i>	0,0922	0,0889	0,0871	0,0918	0,0836	0,0496	0,0449			
JQ228377.1: <i>Theobroma cacao</i>	0,6012	0,6007	0,5946	0,5953	0,6039	0,6428	0,5918	0,6071		
4697561 <i>Durio macrantha</i>	0,0962	0,0929	0,0103	0,0162	0,0237	0,0922	0,0955	0,0954	0,5899	

Gambar Lampiran 13. *Multiple alignment* sekuen *rbcl*



Gambar Lampiran 14. Multiple alignment sekuen ITS



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama Lengkap : Diyana Sabila Rusydina
Tempat/Tanggal Lahir : Kab. Semarang, 29 Maret 2001
Alamat : Medayu RT.15/RW.04 Kec. Suruh,
Kab. Semarang
Telp/HP : 081228864386
Email : Saurusydina123@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. MI Bustanul Mubtadiin
 - b. SMP Al-Muayyad Surakarta
 - c. SMA Al-Muayyad Surakarta