

**KERAGAMAN GENETIK *Flacourtia rukam* Zoll
& Moritzi KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR
BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN
MARKA MOLEKULER ISSR**

SKRIPSI

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



Oleh: Muhammad Ramdhani Arfan

NIM: 1808016012

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG

2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Ramdhani Arfan

NIM. : 1808016012

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Zoll & Moritzi
Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Karakter
Morfologi dan Marka Molekuler ISSR**

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

Semarang, Juni 2022

Pembuat Pernyataan



Muhammad Ramdhani Arfan

1808016012



KEMENTERIAN AGAMA RI UNIVERSITAS ISLAM
NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan, Semarang
Telp. (024)7601295 fax.7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Keragaman Genetik *Flacourtia ruka* Zol.&
Moritzii Koleksi Kebun Raya Bogor
Berdasarkan Karakter Morfologi dan
Marka Molekuler ISSR**

Penulis : Muhammad Ramdhani Arfan
NIM 1808016012

Program Studi : Biologi

Telah diujikan dalam Sidang Munaqasyah oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang dan
dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
sarjana dalam ilmu Biologi

Semarang, Mei 2022

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Arnia Sari Mukaromah
NIP. 198709112018010001

Penguji II

Irfan Martiansyah, M. Si
NIP. 198503032019021002

Penguji III

Dr. Lianah, M. Pd
NIP. 195903131980030001

Penguji IV

Gaig Farhatul Wahidah, M. Si
NIP. 1975022220091220002

Pembimbing I

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc
NIP. 198709112018012001

Pembimbing II

Irfan Martiansyah, M.Si
NIP. 198503032019021002

NOTA DINAS

Semarang, Juni 2022

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 : Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Zoll & Moritzi
Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Karakter
Morfologi dan Marka Molekuler ISSR

Nama : Muhammad Ramdhani Arfan

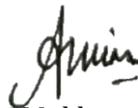
NIM : 1808016012

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing I



Arnia Sari Mukharomah, M. Sc

NIP. 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, Juni 2022

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 : Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Zol & Moritzi
Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Karakter
Morfologi dan Marka Molekuler ISSR

Nama : Muhammad Ramdhani Arfan

NIM : 1808016012

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing II



Irfan Martiansyah, M. Si

NIP. 198503032019021002

ABSTRAK

Flacourtia rukam merupakan spesies koleksi terbanyak dari genus *Flacourtia* di Kebun Raya Bogor yang memiliki karakter morfologi bervariasi karena hasil eksplorasi dari tiga pulau berbeda meliputi Sumatra, Sulawesi, dan Kalimantan. Variasi morfologi menjadi indikator keragaman genetik akan tetapi molekuler penting dalam menghindari *homoplasy*. Keragaman genetik menjadi salah satu pertimbangan penting untuk upaya konservasi dan program pemuliaan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor berdasarkan marka morfologi, molekuler ISSR, dan kekerabatan antar keduanya. Analisis keragaman genetik menggunakan *software* NTSYSPC 2.11a metode UPGMA klastering SAHN dengan nilai koefisien similaritas *Simple Matching*. Hasil penelitian menunjukkan keragaman genetik melalui marka morfologi nilai similaritasnya yaitu 0.54-0.84 sedangkan marka molekuler yaitu 0.418-0.727. Koleksi 156 dan 174 menjadi yang paling mirip pada karakter morfologi. Permukaan batang, bangun, dan tepi daun adalah karakter dengan keragaman tinggi. Koleksi 115 dan 156 memiliki nilai similaritas tertinggi, 0.727 pada analisis marka molekuler ISSR. Hasil dendrogram melalui marka molekuler ISSR mengelompok berdasarkan asal observasi dan representatif terhadap karakter morfologi daun. Variasi makro geofisik di Indonesia diduga menjadi penyebab keragaman genetik *Flacourtia rukam* antar dua pulau asal yaitu Sumatra dan Sulawesi. Rata-rata PIC yang dihasilkan empat primer ISSR adalah 0.447 dan cukup representatif dalam mendeterminasi keragaman genetik *Flacourtia rukam*.

Kata Kunci: *Flacourtia rukam*, Kebun Raya Bogor keragaman genetik, morfologi, ISSR

ABSTRACT

Flacourtia rukam is the most collectible species of the genus *Flacourtia* in the Bogor Botanical Garden which has a varied morphological character due to the exploration results of three different islands, Sumatra, Sulawesi, and Kalimantan. Morphological variations are indicators of genetic diversity but molecular is important in avoiding homoplasy. Genetic diversity is one of the important considerations for conservation efforts and breeding programs. This study aims to analyze the genetic diversity of *Flacourtia rukam* collection of the Bogor Botanical Gardens based on morphological markers, molecular ISSR, and genetic relationship between the two. To determine genetic diversity it was analyzed through NTSYSPC 2.11a software using the UPGMA method of clustering SAHN with simple matching (SM) similarity coefficient value. The results showed genetic diversity through morphological markings the similarity value was 0.54-0.84. The analysis used molecular markings of 0.418-0.727. Collections 156 and 174 became the most similar in morphological characters. The surface of the stem, shape, and edge of the leaf are characters with high diversity. Collections 115 and 156 have the highest similarity value on the ISSR molecular marking analysis. The dendrogram analysis of ISSR has a correlation to morphological markings by grouping based on the origin of observations and leaf morphology. Macrogeophysical variations in Indonesia are thought to be the cause of *Flacourtia rukam* genetic diversity between two native islands, namely Sumatra and Sulawesi. The average PIC produced by the four primary is 0.447 which means it is quite representative in detecting the genetic diversity of *Flacourtia rukam*.

Keywords: *Flacourtia rukam*, Bogor Botanical Garden, genetic diversity, morphology, ISSR

KATA PENGANTAR

Rasa syukur kepada Allah SWT penulis ucapkan, karena pemberian hidayah dan inayah-Nya, maka penulis bisa menjalani dan menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir berupa skripsi di tahun 2022 yang berjudul “Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Zoll & Moritzi Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Marka Morfologi dan Marka Molekuler ISSR” dengan baik dan lancar. Shalawat serta salam kita agungkan kepada Nabi Muhammad SAW yang kita nantikan syafaatnya di yaumul kiyamah dan telah mengantarkannya manusia dari zaman jahiliyah menuju kebenaran semata.

Penyusunan Tugas Akhir berupa Skripsi ini tentunya tidak terlepas dari berbagai pihak yang mendukung dalam penyusunan laporan tersebut. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak yang mendukung, seperti:

1. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang selaku penanggung jawab terselenggaranya Kerja Praktik;
2. Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya Bogor - Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah bersedia dijadikan sebagai tempat menimba ilmu dan penelitian;

3. Ibu Arnia Sari Mukharomah, M. Sc selaku dosen pembimbing satu dari Program Studi Biologi yang selalu memberikan semangat dan ilmu-ilmu bermanfaat selama proses bimbingan skripsi berlangsung;
4. Bapak Irfan Martiansyah, M. Si selaku pembimbing dua Skripsi dari Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya- LIPI atas bimbingan dan ilmu yang bermanfaat sehingga kegiatan penelitian dan selama proses penulisan Skripsi dapat selesai dengan baik;
5. Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M. Si dan Bapak Prima Wahyu Kususma Hutabarat, M. Sc atas saran, masukan dan diskusinya yang membangun pengetahuan lebih luas;
6. Keluarga Alm.Bapak Ahmad Ahid, Ibu Dwi Rochmawati, Kakak M. Rizki Riyadi, dan Adik saya Nasywaa Kamil yang senantiasa memberikan semangat, saran, maupun doa tanpa putus sehingga penulis merasa termotivasi untuk menyelesaikan segala sesuatu dengan baik;
7. Teman seperjuangan pada masa Kerja Praktik dan Penelitian yaitu Risqi Aprilianingsih, Rifki Nur Mahmudah, Fauzi Akbar, dan Devi Octavia yang begitu mendukung satu sama lain;

8. Teman-teman mahasiswa program studi Biologi telah memberikan dukungan, motivasi, dan berbagi pengalamannya selama peneliti melakukan tahap penulisan skripsi;
9. Keluarga UKM Riset dan Teknologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan tentang karya tulis ilmiah sehingga dalam proses penulisan Skripsi lebih terbantu atas bekal ilmu yang didapat;
10. Teman-teman dari SMA N 2 Kendal bernama Alam dan Kiswa yang senantiasa membuka ruang untuk berdiskusi sehingga memudahkan saya dalam mempelajari sesuatu hal.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Namun, penulis berharap bahwa skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua yang membaca dan dapat dijadikan sebagai pedoman untuk melanjutkan penelitian dalam bidang yang sama.

Semarang, Juni 2022

Penulis



Muhammad Ramdhani Arfan

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR ISTILAH.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II LANDASAN PUSTAKA.....	7
A. Kajian Teori.....	7
1. Keragaman genetik.....	7
2. <i>Flacourtia rukam</i> Zoll. & Mor.....	10
3. Kebun Raya Bogor.....	12
4. Karakter Morfologi.....	14

5. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	15
6. <i>Marka Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)</i>	16
7. Elektroforesis	17
8. Visualisasi pita DNA.....	18
9. SAHN dan UPGMA	19
B. Kajian Hasil Penelitian yang Relevan.....	20
C. Hipotesis Penelitian.....	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat Penelitian	22
B. Alat dan Bahan	23
1. Alat.....	23
2. Bahan.....	23
C. Bagan Alur Penelitian	26
D. Metode.....	27
1. Pengambilan Sampel Daun.....	27
2. Pengamatan Morfologi	27
3. Isolasi DNA	29
4. Amplifikasi DNA	30
5. Elektroforesis	31
6. Analisis Data	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Deskripsi Hasil Penelitian.....	33

1. Hasil Karakterisasi Morfologi <i>Flacourtia rukam</i> Zoll & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor	33
2. Hasil Amplifikasi DNA oleh Empat Primer ISSR pada suhu 52°C.....	37
3. Dendrogram Morfologi dan Molekuler.....	42
B. Pembahasan Hasil Penelitian	47
1. Keragaman Genetik <i>Flacourtia rukam</i> Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Karakter Morfologi	47
2. Keragaman Genetik <i>Flacourtia rukam</i> Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Marka Molekuler ISSR.....	51
3. Kekerabatan antara morfologi dan marka molekuler ISSR terhadap keragaman genetik <i>Flacourtia rukam</i> Zoll. & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor.....	55
BAB V PENUTUP.....	59
A. Kesimpulan.....	59
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
DAFTAR LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
2.1	Daftar koleksi <i>Flacourtia rukam</i> Zoll.&Mor. yang ada di Kebun Raya Bogor (Ariati <i>et al.</i> ,2019)	14
3.1	Tujuh nomor koleksi <i>Flacourtia rukam</i> di Kebun Raya Bogor sebagai sampel	24
3.2	Primer ISSR yang digunakan untuk optimasi suhu annealing pada <i>Flacourtia rukam</i>	24-25
4.3	Analisis polimorfisme hasil amplifikasi empat primer ISSR	40
4.4	Jumlah dan ukuran pita DNA pada empat primer ISSR	40-41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
2.1	Perawakan <i>Flacourtia rukam</i>	11
3.1	Peta lokasi pengambilan sampel	22
3.2	Bagan Alur Penelitian	26
4.1	Morfologi Perawakan <i>Flacourtia rukam</i>	33
4.2	Morfologi batang <i>Flacourtia rukam</i>	34
4.3	Morfologi anak ranting <i>Flacourtia rukam</i>	34
4.4	Morfologi Daun <i>Flacourtia rukam</i>	35
4.5	Visualisasi pita DNA oleh primer xcup14 dengan sekuens 5' AGAGAGAGAGAGAGAGAG AG'3	37
4.6	Visualisasi pita DNA oleh primer Xtxp136 dengan sekuens 5' GCAGCAGCAGCAGCA'3	38
4.7	Visualisasi pita DNA oleh primer Sb6-84 dengan sekuens 5'AGAGAGAGAGAGAGAGA GAGAGAGAGAGAG'3	38

4.8	Visualisasi pita DNA oleh primer Sb6-84 dengan sekuens 5' AGAGAGAGAGAGAGAG AGAGAGAGAGAGAG'3	38
4.9	Dendrogram marka morfologi dengan koefisien Simple Matching tujuh nomor koleksi <i>Flacourtia rukam</i> di Kebun Raya Bogor menggunakan analisis UPGMA	43
4.10	Dendrogram marka molekuler ISSR dengan koefisien Simple Matching mewakili hubungan genetic diantara yang ditunjukkan pada morfologi <i>Flacourtia rukam</i>	44

DAFTAR ISTILAH

Istilah	Penjelasan	Halaman
Homoplasy	Adanya persamaan karakter tetapi asalnya berbeda	50
Polimorfisme	Mutasi gen tidak merubah struktur melainkan fungsi	3, 16, 19, 20, 40, 51
Polimorfik	Lebih dari satu alel menempati lokus gen tersebut dalam suatu populasi	17, 39-41, 51, 52
Mikrosatelit	Runutan DNA, 2-7 basa nukleotida yang berulang	16, 19, 51
Serrate	Bergerigi	36, 47-49, 73
Crenate	Beringgit	36, 48, 73
Primer	Nukleotida pendek 12-20 sebagai awal pemanjangan DNA	15-17, 21, 24-25, 30, 37-41, 51-52
Flaky	Mengeripik	72
Polymorphic Information Content (PIC)	Indeks penilaian variasi suatu marka molekuler	40, 41, 52

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel/Gambar	Judul	Halaman
Tabel Lampiran 1	Karakter morfologi <i>Flacourtia rukam</i> koleksi Kebun Raya Bogor	72-76
Tabel Lampiran 2	Hasil skoring karakter morfologi <i>Flacourtia rukam</i> koleksi Kebun Raya Bogor	77-78
Tabel Lampiran 3	Similaritas koefisien Simple Matching dari marka morfologi <i>Flacourtia rukam</i> koleksi Kebun Raya Bogor	79
Tabel Lampiran 4	Similaritas koefisien Simple Matching dari marka molekuler ISSR pada <i>Flacourtia rukam</i> koleksi Kebun Raya Bogor	79
Tabel Lampiran 5	Hasil skoring pita DNA oleh empat primer ISSR	80-84
Tabel Lampiran 6	Gabungan hasil skoring oleh empat primer ISSR	85-88
Gambar Lampiran 1	Dokumentasi kegiatan selama penelitian skripsi	89

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Flacourtiaceae merupakan suku tumbuhan pantropis yang sulit dikenali karena memiliki karakter morfologi sangat beragam (Chase *et al.*, 2002). *Flacourtiaceae* memiliki karakter morfologi, pori batang tersebar kurang baik di lingkaran tumbuh batang, cabang terkadang berduri, daun bertipe *alternate*, tepi rata, bergigi, atau bergerigi yang sering ditemukan ganda (Lemke, 1988). Anggota famili *Flacourtiaceae* terdiri dari 79 genus dan 880 spesies (Lemke, 1988). Beberapa jenis telah dimanfaatkan sebagai obat dan bahan pangan seperti *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. (Pradityo *et al.*, 2016), *Homalium grandiflorum* Bent sebagai bahan obat luka bakar (Nurrani *et al.*, 2015) dan kikisan batang *Pangium edule* sebagai obat busung perut (Wulandari, 2018).

Kebun Raya Bogor memiliki peran dalam konservasi tumbuhan dataran rendah basah (Zulkarnaen & Andila, 2015). *Flacourtia* menjadi salah satu koleksi tumbuhan yang dimiliki oleh Kebun Raya Bogor dengan jumlah *F. indica* (dua), *F. inermis* (lima), *F. jangomas* (enam), dan *F. rukam* (13) (Ariati *et al.*, 2019). *Flacourtia rukam* menjadi koleksi terbanyak dalam genusnya di Kebun Raya Bogor. Koleksi *F. rukam* di Kebun Raya Bogor memiliki karakter morfologi bervariasi yang

berasal dari hasil observasi tiga pulau berbeda yaitu Kalimantan, Sumatra, dan Sulawesi (Ariati *et al.*, 2019) dengan populasi alami banyak ditemukan di pulau Sumatra (Fadiyah *et al.*, 2020).

Keberadaan *F. rukam* secara alami masih banyak ditemukan dan sudah mulai dibudidayakan (Lestari *et al.*, 2017), walaupun kurang terlalu diperhatikan oleh masyarakat (Sari, 2018). Buah impor yang banyak beredar di pasaran akan mengancam keberadaan eksistensi jenis-jenis buah lokal. Salah satu langkah antisipasi yang dapat dilakukan adalah upaya konservasi tanaman tersebut.

Konservasi bisa dilakukan dengan eksplorasi dan karakterisasi. Adanya variasi morfologi yang berhasil dikarakterisasi pada suatu tanaman dapat bermanfaat dalam mengetahui keragaman genetik sehingga memberikan informasi dalam upaya program pemuliaan tanaman (Saragih *et al.*, 2018).

Keragaman genetik dapat dilakukan dengan beberapa metode deteminasi yaitu morfologi, biokimia dan molekuler (Rifatunidaudina *et al.*, 2019). Keragaman genetik menjadi kunci dalam melakukan pemuliaan tanaman. Menurut (Sari & Kuswanto, 2019), semakin luas keragaman genetik yang terlibat pada pemuliaan tanaman, maka akan semakin besar peluangnya untuk memperoleh sifat yang diinginkan.

Karakter morfologi yang mudah berubah disebabkan pengaruh suatu faktor lingkungan, menjadi kekurangan dalam metode determinasi tersebut. Oleh karena itu, diperlukan analisis melalui marka molekuler. Menurut (Sugiantari *et al.*, 2015), determinasi marka molekuler akan memberikan hasil keragaman genetik yang tinggi antar individu. Selain itu, determinasi ini sulit dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pemilihan marka molekuler *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) merupakan langkah yang tepat. Hal ini disebabkan karena marka molekuler ISSR akan memberikan informasi terkait polimorfisme, hubungan dan keragaman genetik (Rifatunidaudina *et al.*, 2019). Beberapa penelitian terdahulu berhasil mengetahui tingkat variasi genetik yang dihasilkan, seperti penelitian (Yulita *et al.*, 2014) dengan aksesori Kentang Hitam (8,2-16,39%) yang bervariasi rendah, penelitian (Yulita & Naiola, 2013) tentang keragaman genetik aksesori jagung (50-73%) bervariasi sedang, sementara pada keragaman genetik teh (84%) bervariasi tinggi (Mondal, 2002).

Penelitian sebelumnya tentang keragaman genetik *F. rukam* hanya sebatas ditemukan melalui karakter morfologi. Sedangkan analisis menggunakan marka molekuler ISSR belum ditemukan pada penelitian terdahulu. Oleh karena itu, analisis keragaman genetik *Flacourtia rukam* Zoll & Moritzi koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan marka molekuler

ISSR menjadi peluang dan solusi terbaik untuk dilakukan dalam penelitian ini.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah

1. Bagaimana keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. koleksi Kebun Raya Bogor berdasarkan karakter morfologi?
2. Bagaimana keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. koleksi Kebun Raya Bogor berdasarkan marka molekuler ISSR?
3. Bagaimana korelasi antara karakter morfologi dan marka molekuler ISSR terhadap keragaman genetik *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor?

C. Tujuan

Tujuan Penelitian ini adalah

1. Menganalisis keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. koleksi Kebun Raya Bogor berdasarkan karakter morfologi.
2. Menganalisis keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. koleksi Kebun Raya Bogor berdasarkan marka molekuler ISSR.
3. Menganalisis korelasi antara karakter morfologi dan marka molekuler ISSR terhadap keragaman genetik *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Penulis

- a. Sebagai bentuk implementasi hasil dari *transfer knowledge* antara dosen dengan mahasiswa selama perkuliahan terutama materi yang berkaitan dengan molekuler.
- b. Sebagai sumbangsih kepada ilmu pengetahuan untuk dijadikan referensi dan data aktual penelitian selanjutnya.
- c. Melatih keterampilan di laboratorium molekuler.

2. Bagi Instansi

- a. Memperkaya data sistem informasi registrasi (SIGit) pihak Kebun Raya Bogor untuk menghindari kesalahan identifikasi spesies *Flacourtia rukam*.
- b. Menambahkan referensi untuk perpustakaan instansi, seperti Kebun Raya Bogor dan UIN Walisongo Semarang.
- c. Memberikan sumbangsih pengalaman penelitian bidang molekuler kepada mahasiswa Biologi UIN Walisongo Semarang.
- d. Sebagai bentuk nyata keikutsertaan dalam mewujudkan visi misi prodi Biologi UIN Walisongo Semarang terutama bagian kelestarian lingkungan.

3. Bagi Masyarakat

- a. Memberikan informasi keragaman genetik pada spesies *Flacourtia rukam* dari koleksi Kebun Raya Bogor melalui ciri morfologi dan marka ISSR.

- b. Memberikan data aktual keragaman genetik *Flacourtia rukam* untuk bisa dilakukan upaya pemanfaatan

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Keragaman genetik

Keragaman genetik merupakan perbedaan karakter tingkat gen yang menunjukkan sifat dan khas pada populasi tanaman sehingga karakter unggul bisa menjadi sumber kegiatan pemuliaan tanaman (Aulia, 2016). Keragaman genetik biasanya disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain introduksi, persilangan, mutasi, proses transgenik (Sa'diyah *et al.*, 2013), maupun pengaruh lingkungan yang tidak sama dan tidak konstan (Apriliyanti *et al.*, 2016).

Penelitian keragaman genetik penting untuk upaya pemuliaan tanaman dengan proses penyeleksian, pengendali persilangan, dan sebagai dasar mendapatkan kultivar unggul (Siregar & Olivia, 2012). Penelitian keragaman genetik dapat dilakukan dengan metode determinasi morfologi, biokimia dan molekuler (Rif'atunidaudina *et al.*, 2019). Determinasi morfologi mudah dilakukan karena bersifat kasat mata, tetapi karakter yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Hadiyanti *et al.*, 2018) menjadikan karakter tersebut tidak stabil. Biokimia digunakan sebagai penanda keragaman genetik, karena tidak mudah dipengaruhi oleh lingkungan.

Marka ini jarang digunakan karena faktor pengekspresian biokimia hanya pada waktu dan organ tertentu. Marka molekuler merupakan fragmen DNA yang memiliki karakter tertentu pada suatu genom (Hafizah *et al.*, 2018). Tidak dipengaruhi faktor lingkungan, marka molekuler bersifat *conserve*. Daerah *conserve* dapat digunakan dalam penelitian hubungan kekerabatan dan keragaman genetik (Purnomo & R. S. Ferniah, 2018).

Keragaman genetik secara tidak langsung telah dijelaskan di dalam al-Qur'an, yaitu pada Q.S. At-Thaha ayat 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَوَّاكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan”.

Arti ayat “Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam” menjadi dasar dari penelitian keragaman genetik. Tafsir dari ayat tersebut, lafaz *syattaa* ini membentuk kata sifat daripada lafaz *azwajaan*, maksudnya, yang berbeda-beda warna dan rasa serta lain-lainnya. Lafaz *syattaa* ini adalah bentuk jamak dari lafal *syatiitun*, wazannya sama dengan lafaz

mardhaa sebagai jamak dari lafal *mariidhun*. Ia berasal dari kata kerja *syatta* artinya *tafarraqa* atau berbeda-beda (Al-Mahally *et al.*, 1990).

2. *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor.

Menurut (ITIS, 2011) klasifikasi *Flacourtia rukam* sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malphigiales
Famili	: Salicaceae
Genus	: <i>Flacourtia</i>
Spesies	: <i>Flacourtia rukam</i> Zoll. & Mor.

Flacourtia rukam memiliki nama lokal Rukem (Jawa), Tonggolen (Sumatera), Tangkulung (Nusa Tenggara) (Subkhan, 2017). Daerah penyebaran meliputi Kawasan Malesia, Indonesia, dan New Guinea. Habitat *F. rukam* tumbuh di hutan primer dan sekunder yang lembab (Gambar 2.1). Selain itu, *F. rukam* ditemukan di sepanjang aliran sungai, tanah berpasir dangkal, dan daerah dengan ketinggian mencapai 2.100 mdpl (Gunawan *et al.*, 2019).



Gambar 2.1. Perawakan *Flacourtia rukam*
(Dokumentasi Pribadi, 2021)

Pohon Rukam memiliki karakter pohon yang berduri dengan tinggi sekitar 7 m, berdiameter batang 17 cm, bentuk buah bulat kecil berwarna hijau saat muda dan merah dalam kondisi masak (Fadiyah *et al.*, 2020). Morfologi daun tumbuhan ini berwarna merah saat muda dan tua berwarna hijau (Zurriyati & Dahono, 2016). Daunnya tunggal, berambut atau tidak, lamina membundar telur-melonjong, menjorong-melonjong, atau melonjong-memita dengan ukuran 6-16 x 4-7 cm. bagian pangkal tumpul-membundar, ujungnya meruncing, tepi bergerigi, permukaan atas dan bawahnya berambut jarang atau halus, tulang daun menonjol berjumlah 5-11 pasang. Sistem perbungaan adalah majemuk dengan tipe tandan (Sari & Kuswanto, 2019). Bunga hermafrodit tanpa mahkota, daun kelopak berjumlah 3-6, benang sari banyak, warna jingga-

kuning. Jenis buah buni, berbentuk bulat telur sungsang dengan ukuran 2 - 2,5cm (Lestari *et al.*, 2017).

Flacourtia rukam telah banyak digunakan sebagai obat tradisional. Beberapa menggunakannya sebagai obat sakit mata (Putri *et al.*, 2019), obat diare pada daun muda karena senyawa alkaloid (Fitri *et al.*, 2016), rebusan akar digunakan wanita yang baru bersalin (Fadiyah *et al.*, 2020), obat gangguan ginjal dan kelenjar limfa (Kota *et al.*, 2012).

3. Kebun Raya Bogor

Kebun Raya Bogor merupakan suatu lembaga bidang botani yang sekaligus sebagai pusat konservasi tumbuhan dengan berbagai jenis koleksi di dalamnya. Pada tahun 2017, total koleksi umum yang dimiliki kebun raya bogor berjumlah 12.370 spesimen yang berasal dari 3.555 spesies, 1.202 genera dan 191 famili (Ariati *et al.*, 2019). *Database* koleksi di Kebun Raya Bogor berupa website dan buku katalog selalu diperbarui setiap tahunnya. Kebun Raya Bogor memiliki tugas pokok yaitu konservasi, penelitian, pendidikan, dan penyediaan jasa lingkungan. Kebun Raya Bogor mengkoleksi tumbuhan dengan ciri khas yang dimiliki adalah jenis tumbuhan dataran rendah basah (Zulkarnaen & Andila, 2015).

Kebun Raya Bogor memiliki Sistem Informasi Registrasi (SIGit) yang dapat diakses melalui internet sebagai daftar rujukan identifikasi terhadap tumbuhan yang ada di Kebun

Raya Bogor (LIPI, 2016). Adanya buku katalog dan sistem data yang terintegrasi tersebut, memberikan informasi akurat mengenai koleksi yang terdata di Kebun Raya Bogor. Seperti contohnya adalah data spesies *Flacourtia rukam* di buku katalog masing-masing berjumlah *F. indica* (dua), *F. inermis* (lima), *F. jangomas* (enam), dan *F. rukam* (13) (Ariati *et al.*, 2019).

Koleksi *Flacourtia rukam* di Kebun Raya Bogor tersedia dalam keadaan segar dengan rincian pada Tabel 2.1. Koleksi tersebut berdasarkan buku katalog Kebun Raya Bogor yang berhasil terhimpun pada tahun 2019.

Tabel 2.1. Daftar koleksi *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. yang ada di Kebun Raya Bogor (Ariati *et al.*, 2019)

Spesies	Asal	Nomor Koleksi
<i>Flacourtia rukam</i> Zoll & Moritzi	W. Kalimantan	II.O.IV.34
	SE. Sulawesi	IV.F.191
		II.O.IV.35
	W. Sumatra	II.O.IV.A.22
	Sumatra: Bangka I	IV.F.156, IV.F.115-115a
	Sumatra: Lampung	XXIV.B.171- 171a
<i>Flacourtia</i> sp.	C. Sumatra	II.O.IV.A.18
	Sumatra: Jambi	IV.F.178

Fasilitas penunjang konservasi *ex-situ* di Kebun Raya Bogor meliputi Bank Biji, Laboratorium Treub, Kultur Jaringan, dan Herbarium. Laboratorium molekuler di Treub mengarahkan pada bidang genetika konservasi, seperti DNA *barcoding* dan

bank DNA. Data hasil penelitian akan menjadi rekomendasi pengambilan keputusan seperti pendayagunaan tumbuhan, pemecahan problematika taksonomi tanaman langka, maupun proses domestikasi jenis tumbuhan tertentu (Listyarini, 2017).

4. Karakter Morfologi

Morfologi merupakan obyek penelitian di bidang botani dengan menyelidiki dan membandingkan suatu individu melalui karakter bentuk, struktur, dan reproduksi (Foster & Gifford, 1974). Perkembangan ilmu Botani, sifat morfologi menjadi awal dan sering digunakan karena dapat membantu menentukan tingkatan taksonomi suatu individu. Karakter morfologi masih cukup dipercaya sebagai dasar klasifikasi tumbuhan karena memiliki tingkat keakuratan yang baik, dapat dilakukan dengan cepat, dan terjangkau untuk mendata keanekaragaman individu (Sari, 2012).

Karakterisasi menggunakan morfologi penting dalam menentukan sifat khas, mengidentifikasi aksesori yang terduplikasi, dan penataan populasi untuk upaya konservasi. Variasi morfologi yang muncul memberikan gambaran bahwa individu beradaptasi terhadap lingkungannya. Sehingga karakter morfologi memunculkan suatu keterbatasan dalam penggunaannya untuk studi keragaman genetik karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Hadiyanti *et al.*, 2018).

5. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik enzimatik yang digunakan untuk amplifikasi DNA secara *in vitro*. Metode PCR bersifat siklus, sehingga hasil penggandaan DNA organisme spesimen akan menjadi sangat banyak (Yusuf, 2010). *Polymerase Chain Reaction (PCR)* memiliki andil besar dalam perolehan data keragaman genetik suatu makhluk hidup, termasuk juga pada tanaman. Optimasi suhu *annealing* PCR diperlukan dengan tujuan menghasilkan kondisi optimal PCR dan menghasilkan produk amplifikasi DNA target oleh primer. Menurut (Herman *et al.*, 2017) optimasi suhu *annealing* dapat ditentukan *minus* 5°C dari T_m primer. Suhu yang terlalu tinggi atau rendah, menyebabkan primer tidak terlekat pada fragmen DNA target (Hikmah *et al.*, 2016).

Menurut (Yusuf, 2010) tahapan siklus PCR antara lain:

- a. Denaturasi : proses ini akan melepaskan ikatan hidrogen pada DNA sehingga untai DNA terbuka menjadi *single strand* masing-masingnya. Tahap denaturasi dilakukan pada suhu 94-98°C dengan lama waktu sekitar 20-30 detik;
- b. Penempelan: Proses ini akan memfasilitasi penempelan primer dan *Taq polymerase* pada suhu umum sekitar 50-60°C dengan lama waktu bergantung pada panjang basa dan spesifikasi primer;

c. Pemanjangan : Proses ini identik dengan pemanjangan untai DNA dari dNTPs oleh *Taq Polymerase*. Suhu berkisar 72-78°C, *Taq polymerase* akan mengikat pada primer, kemudian mulai melakukan pemanjangan untai arah 5'-3'.

6. Marka *Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)*

Analisis sidik jari DNA (*DNA Fingerprinting*) menjadi salah satu penerapan marka molekuler dalam menentukan keragaman plasma nutfah dengan rekonstruksi filogenetik (Utami *et al.*, 2012). *Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)* merupakan suatu marka molekuler yang menggunakan metode PCR dengan DNA sebagai bahan analisis untuk memberikan informasi terkait polimorfisme, hubungan dan keragaman genetik (Anne, 2006) dalam (Rifatunidaudina *et al.*, 2019). Pemanfaatan ISSR untuk analisis keragaman genetik memiliki beberapa keunggulan, yaitu relatif cepat, murah dan jumlah DNA sedikit, informasi sekuen genom yang tidak diperlukan (Rahayu & Handayani, 2011).

Amplifikasi menggunakan primer ISSR akan menunjukkan sejumlah lokus per primer. Primer ini tidak memerlukan lokus yang spesifik, melainkan primer akan mencari tempat dari gen yang terdapat mikrosatelit (Agisimanto *et al.*, 2007). Sekuens yang diamplifikasi sebagai marka ISSR umumnya memiliki panjang 200-2000bp (Fauziah, 2017). Primer ISSR akan

menghasilkan pita polimorfik ketika salah satu genom mengalami delesi, insersi, maupun translokasi yang mengakibatkan perubahan jarak antar urutan berulang (Bani *et al.*, 2017).

7. Elektroforesis

Elektroforesis adalah teknik analisis kimiawi berdasarkan molekul bermuatan yang bergerak di medan listrik (Rohmana *et al.*, 2016). Medan listrik akan memisahkan senyawa bermuatan kation atau anion (Harahap, 2018). Teknik ini biasa digunakan untuk pemisahan DNA dan protein yang memerlukan media gel. Poliakrilamid Gel Elektroforesis (PAGE) tepat digunakan karena memiliki pori kecil sehingga dapat memisahkan molekul. Terdiri dari dua bagian pada gel elektroforesis yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*, keduanya memiliki fungsi berbeda. *Stacking gel* sebagai tempat sampel dan *resolving gel* untuk media gerak molekul (Saputra, 2014). Menurut (Rohmana *et al.*, 2016) faktor dari pergerakan molekul bergantung pada massa, bentuk molekul, suhu porositas, dan viskositas media. Molekul pendek akan bergerak lebih cepat dari pada molekul yang panjang menuju anoda. Molekul yang panjangnya berbeda-beda akan membentuk *band* di dalam gel berdasarkan berat molekul (Ubaidillah dan Hari Sutrisno, 2012).

8. Visualisasi pita DNA

Visualisasi hasil elektroforesis menggunakan *gel documentation system* yang bertujuan untuk membaca hasil pita DNA yang telah terelektroforesis (Carsono *et al.*, 2014). Pita DNA *ladder* dijadikan sebagai patokan ukuran terhadap pita DNA sampel untuk mengetahui besaran DNA yang berhasil divisualisasikan oleh *gel documentation*. Adapun prinsip kerja dalam *gel documentation system*, memanfaatkan sinar UV sebagai pemancar kepada gel agarosa, dimana sinar tersebut akan berpendar untuk memvisualisasikan hasil pendaran dari adanya pewarna yang menempel pada pita DNA (Maftuchah *et al.*, 2014).

9. SAHN dan UPGMA

Analisis data deskriptif berupa pengamatan morfologi dan marka molekuler disajikan dengan analisis kluster. *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested* (SAHN) akan mengelompokkan hierarki dari data dan mendeteksi sarang kluster hirarki yang mengelompok penuh pada kumpulan data terinput (Batani *et al.*, 2017). *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) merupakan metode konstruksi pohon yang mengasumsikan rata-rata perubahan sepanjang pohon adalah konstan. UPGMA memulai dari kalkulasinya panjang cabang terdekat saling berhubungan, dilanjutkan rerata jarak tadi dengan kelompok lain dan berikutnya

(Dharmayanti, 2011). Hasil yang didapat berupa konstruksi pohon dendrogram dari analisis hubungan kekerabatan dengan data keragaman genetik yang dimiliki oleh sampel.

Penelitian sebelumnya dengan metode SAHN dan UPGMA pada Ntsys, telah banyak dilakukan seperti penelitian (Anton *et al.*, 2014) tentang analisis kekerabatan dari Macang, penelitian oleh (Pangkey *et al.*, 2014) tentang polimorfisme pada enzim peroksidase Ramin, kemudian tentang Keragaman genetik Kedelai menggunakan Mikrosatelit oleh (Nugroho *et al.*, 2017).

B. Kajian Hasil Penelitian yang Relevan

Penelitian terkait keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* pernah dilakukan oleh (P. D. Sari & Kuswanto, 2019) dengan judul Studi Karakterisasi dan Keragaman Sifat Kualitatif Tanaman Rukam (*Flacourtia rukam* Zoll. & Mor.) dengan artikel terpublikasi di *Journal of Agricultural Science* volume 4 nomor 2 halaman 167-176. Tujuan penelitian yaitu mengidentifikasi karakter morfologi untuk memperoleh aksesori yang unggul, mengetahui keragaman sifat kualitatif tanaman rukam, dan mengetahui hubungan kekerabatan tanaman rukam di Kecamatan Namada dan Batukliang Utara. Aksesori Teratak (TT) menjadi yang paling unggul diantara aksesori lain. Desa Aik Bukak dan Teratak banyak ditemukan pohon rukam, sehingga karakteristik lingkungan optimum tergambar

pada kedua lokasi tersebut. Keragaman yang didapatkan antara tanaman Rukam yang ada di Kecamatan Namada dan Kecamatan Batukluang Utara dari sifat kualitatif dan kuantitatif, nilai koefisiennya sebesar 80-97,5%.

Penelitian kedua dilakukan oleh (Sulima & J. A. Przyorowski, 2013) yang berjudul *Genetic Diversity of Salix purpurea L. Genotypes and Interspecific Hybrids*. Penelitian ini menghasilkan produk amplifikasi yang polimorfisme pada seluruh genotip sebesar 91,84% dan hanya genotip *S. purpurea* sebesar 70,39%. Total produk amplifikasi sebesar 331 dengan rata-rata per primernya adalah 8,3. Marka molekuler ISSR menjadi pilihan yang paling baik untuk menentukan keragaman genetik pada *S. purpurea*.

C. Hipotesis Penelitian

1. H0 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* tidak berbeda secara signifikan berdasarkan karakter morfologi
H1 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* berbeda secara signifikan berdasarkan karakter morfologi
2. H0 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* tidak berbeda secara signifikan berdasarkan marka molekuler ISSR
H1 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* berbeda secara signifikan berdasarkan marka molekuler

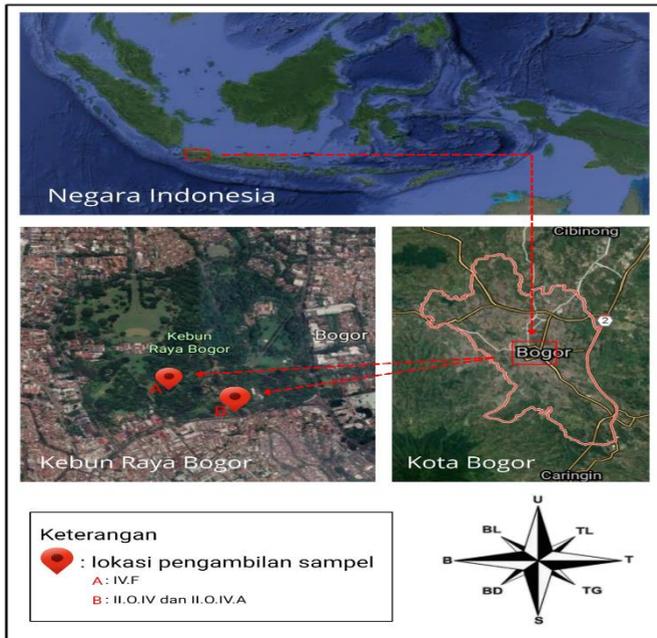
3. H0 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* tidak berkorelasi secara signifikan antara penanda morfologi dan marka molekuler ISSR
- H1 :Keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* berkorelasi secara signifikan antara penanda morfologi dan marka molekuler ISSR

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan dengan rincian, pengambilan data pada tanggal 18 Januari hingga 26 Februari 2021 di Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor, Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – BRIN dan analisis data pada bulan Januari hingga April 2022.



Gambar 3.1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor sesuai vak nomor koleksi yang tercantum dalam buku katalog maupun peta dari Kebun Raya Bogor (Gambar 3.2).

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang akan digunakan untuk menunjang penelitian antara lain gunting, plastik klip, label gantung, spidol marker, mortar, pistil, pinset, spatula, mikropipet (Eppendorf) 2,5 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, dan 1000 μ l, , *heatblock* (VWR), *freezer*, *sentrifuge* (Spectrafuge 24D), *vortex* (VWR), *spindown* (Benchmark), *microwave* (Sharp), *thermocycler* (Takara Gradient), neraca analitik (Precisa XT220A), Erlenmeyer (Iwaki) 100 ml, set elektroforesis (Mupid), dan *Gel documentation* (EZ Imager Bio-Rad).

2. Bahan

Bahan yang akan digunakan untuk menunjang penelitian antara lain daun *F. rukam* berbagai nomor koleksi terdapat pada (Tabel 3.1), pasir silika, *microtube* 2 ml dan 1,5 ml, *aluminium foil*, karet gelang *Tiangen plant genomic DNA kit*, PCR mix (DreamTaq Green PCR Master Mix (2X), ddH₂O, Tris-Acetate-Edta (Thermoscientific 50X HB49), *gene ruler* 1 kb dan 100 bp (Thermoscientific SM0311), Gelred (biotium 41003),

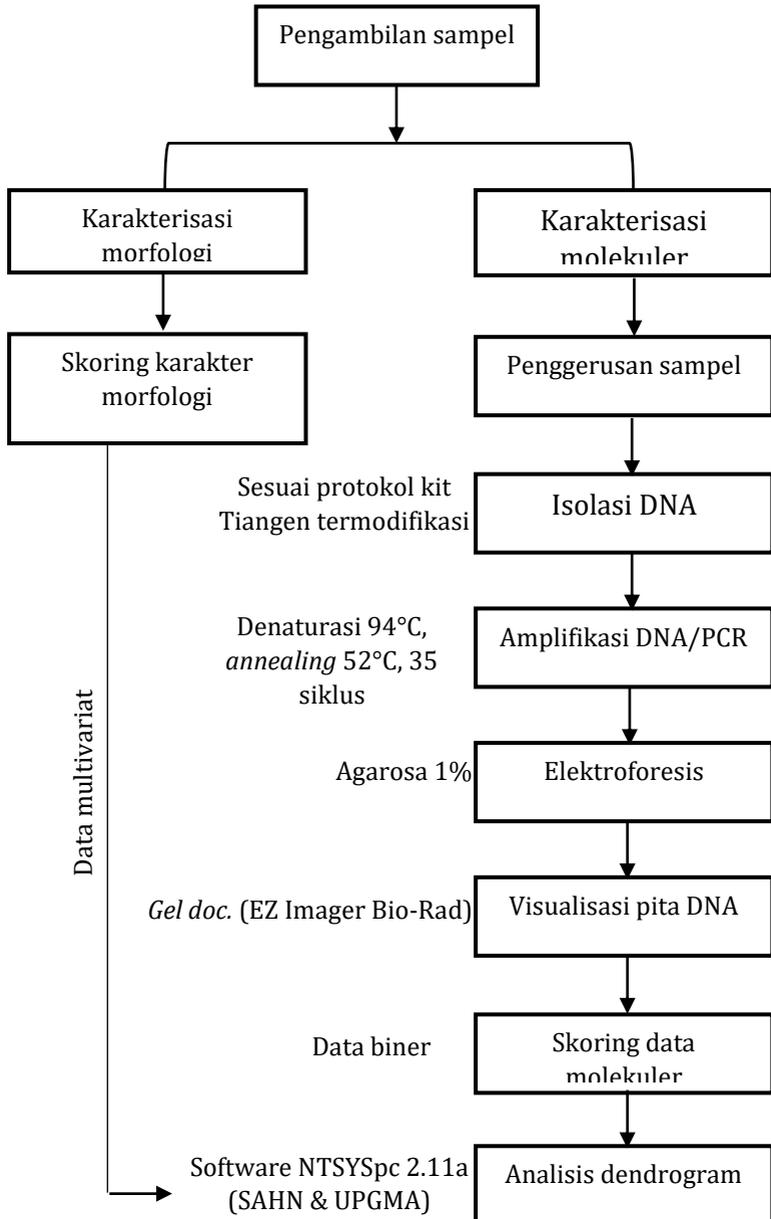
Tabel 3.2. Lanjutan

No.	Nama Primer	Sekuens Nukleotida (5'-3')
5.	Xt4p53	TTTATTTATTTATTTATTTA
6.	Xcup14*	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
7.	Xtxp136*	GCAGCAGCAGCAGCA
8.	Sb6-84*	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA G
9.	Sb4-72*	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA GAG
10.	XcuPO7	CCACCACCACCACCACCACCA

Keterangan : * primer ISSR yang digunakan sebagai marka molekuler *Flacourtia rukam*

Seleksi primer yang telah dilakukan optimasi suhu *annealing* berjumlah empat. Suhu 52°C digunakan sebagai suhu optimum *annealing*. Primer lainnya terseleksi sehingga tidak digunakan dalam penelitian lebih lanjut (Tabel 3.3).

C. Bagan Alir Penelitian



D. Metode

1. Pengambilan Sampel Daun

Daun diambil untuk pengamatan ciri morfologi memiliki kriteria daun dewasa, daun muda, dan tidak terserang penyakit (Sunaryo, 2015). Daun digunakan untuk analisis molekuler berjumlah tiga helai daun dewasa yang tidak terserang penyakit. kemudian dimasukkan ke dalam plastik klip yang sudah diberikan label sesuai sampel.

2. Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi yang dilakukan pada *Flacourtia rukam* menggunakan parameter bagian batang, ranting dan daun. Adapun karakter yang diamati bersifat data kualitatif sesuai Tabel 4.5 sebanyak 19 karakter. Menurut Sneath dan Sokal (1962), minimal karakterisasi morfologi adalah $2n+1$, dimana n merupakan jumlah dari sampel yang dikarakter.

Tabel 3.3. Karakter Morfologi *Flacourtia rukam* Zoll & Mor,
Koleksi Kebun Raya Bogor

No.	Ciri Morfologi	Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)		
		IV.F.191	IV.F.174	dst
1.	Perawakan Batang			
2.	Tipe Percabangan			
3.	Warna Kulit Batang			
4.	Permukaan Batang Ranting			
5.	Ada tidaknya duri Daun			
6.	Bangun			
7.	Pangkal			
8.	Tepi			
9.	Warna Permukaan Adaksial (dewasa)			
10.	Warna Permukaan Abaksial (dewasa)			
11.	Warna Permukaan Adaksial (muda)			
12.	Warna Permukaan Abaksial (muda)			
13.	Ujung			
14.	Daging			

Tabel 3.3 lanjutan

No	Ciri Morfologi	Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)		
		IV.F.191	IV.F.174	dst
15.	Warna Tangkai			
16.	Permukaan Adaksial			
17.	Permukaan Abaksial			
18.	Tulang			
19.	Cabang tulang daun			

3. Isolasi DNA

Sampel sebanyak tiga helai daun digerus hingga halus dengan bantuan mortar, pistil, gunting dan pasir silika. Sampel dimasukkan kedalam tabung mikro berukuran 1,5 ml, dengan volume yang dimasukkan 0,1 mL. Sisa sampel gerusan dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 2 ml. Reagen GP1 sebanyak 700 μ l dimasukkan ke sampel 0,1 mL dan divortex. Sampel di inkubasi di *heatblock* selama 20 menit pada suhu 65°C dengan setiap lima menit dibolak-balikkan. Sampel selanjutnya ditambahkan kloroform 700 μ l kemudian disentrifugasi selama 5 menit menggunakan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi, diambil sebanyak \pm 450 μ l atau seluruh supernatan dan ditaruh ke dalam tabung mikro 2 ml lainnya. Supernatan ditambahkan 700 μ l buffer GP2 kemudian dihomogenkan. Supernatan yang telah dihomogenkan, diambil setengah dari volume total, yaitu

sekitar 600-700 μ l kemudian dipindahkan ke spin column CB3. Sampel disentrifugasi selama 30 detik dengan kecepatan 12.000rpm. Hasil cairan sentrifugasi bagian bawah filter dibuang, kemudian dimasukkan kembali sisa sampel ke spin column CB3 yang sama, dan dilakukan juga langkah seperti sebelumnya. Buffer GD ditambahkan sebanyak 500 μ l ke spin column, dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik. Supernatan yang di bawah filter *spin column* dibuang, kemudian ditambahkan reagen PW sebanyak 700 μ l dan dilakukan sentrifugasi selama 30 detik pada kecepatan 12.000 rpm. Reagen PW II ditambahkan sebanyak 500 μ l kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2,5 menit. Wadah penampung bawah filter dibuang, digantikan dengan tabung mikro ukuran 1,5 ml sebagai penampung. Buffer TE sebanyak 100 μ l ditambahkan ke *spin column* kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang dan disentrifugasi menggunakan kecepatan 12.000 rpm selama dua menit. Filter pada *spin column* dibuang dan sampel DNA sudah siap untuk diamplifikasi menggunakan PCR.

4. Amplifikasi DNA

Tahap Amplifikasi DNA, menggunakan beberapa komponen PCR mix, antara lain PCR Kit (dreamtaq) sebanyak enam μ l, ddH₂O tiga μ , Primer Reverse dan Forward masing-masing satu μ l, dan DNA template sebanyak dua μ l, dengan keseluruhan

volume PCR mix adalah 13 μ l. Proses PCR diawali dengan predenaturasi pada suhu 94° selama satu setengah menit diikuti 35 siklus amplifikasi (denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* disuhu optimum 52°C selama 15 detik, dan ekstensi 72°C selama 25 detik) dan ekstensi akhir selama empat menit.

5. Elektroforesis

Media gel agarosa 1% dibuat dari 0,8 gr agarosa dicampur 80ml buffer TAE 1x yang dipanaskan pada *microwave* \pm 2 menit hingga mendidih. Selama setengah menit gel didiamkan, kemudian dituangkan gelred sebagai pewarna, sebanyak 1 μ l dan dihomogenasi. Gel agarosa dituang ke dalam cetakan yang terpasang cetakan sumur, ditunggu hingga memadat. *Ladder* yang digunakan, dimasukkan kedalam sumuran sebanyak 3 μ l. Sampel DNA PCR sebanyak 5 μ l diambil untuk dimasukkan kedalam sumuran selanjutnya, hingga sampel terakhir. Serangkaian alat elektroforesis dihubungkan power supply dan mulai running pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Hasil tersebut lalu divisualisasikan dengan gel documentation dibawah sinar UV. Visualisasi kemudian diberikan keterangan dan dijadikan sebagai data penjelas elektroforesis sebelum tervisualisasi.

6. Analisis Data

Data morfologi diuraikan secara deskriptif terkait seluruh variabel pengamatan yang dilakukan. Data diubah menjadi

data multivariat dengan memberikan skor 1, 2, 3, dan seterusnya menyesuaikan keragaman karakter morfologi pada suatu organ. Software yang digunakan adalah Microsoft office Profesional Plus 2019 Version 2108 dan NTSYSpc 2.11a dengan klastering SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested*) bermetode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) dan nilai koefisien similaritas menggunakan SM (*simple matching*).

Data Molekuler pita DNA diubah menjadi kode biner, yaitu 0 untuk tidak tervisualisasi pita DNA dan 1 berarti tervisualisasi pita DNA. Analisis kluster dilakukan untuk menyusun dendrogram hubungan fenetik dari matriks data kemiripan menggunakan metode UPGMA dengan program SAHN, nilai koefisien *Simple Matching* (SM) dan diperoleh dari *software* NTSYSpc 2.11a. Pengukuran panjang pita DNA hasil visualisasi dianalisis menggunakan *software* GenAnalyzer 19.1

Hasil *Clustering* antara morfologi dan molekuler berupa dendrogram kemudian dibandingkan dan dianalisis keduanya untuk mengetahui keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* di Kebun Raya Bogor menggunakan marka ISSR. Dendrogram adalah *output* melakukan analisis clustering yang merepresentasikan proses kluster dan nilai koefisien yang terbentuk (Sukmawati, 2017).

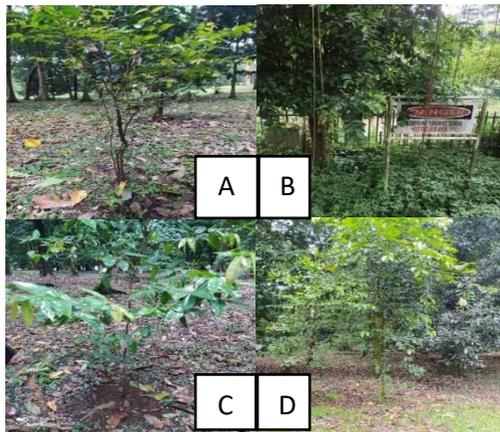
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Hasil Karakterisasi Morfologi *Flacourtia rukam* Zoll & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor

Karakter morfologi *Flacourtia rukam* dari tujuh nomor koleksi di Kebun Raya Bogor berasal dari dua pulau berbeda yaitu Sumatra dan Sulawesi. Daftar nomor koleksi lengkap sampel terdapat pada tabel 3.2. Karakterisasi morfologi dilakukan pada 19 karakter yang berbeda terhadap batang, ranting, dan daun. Hasil karakterisasi morfologi tersebut dapat dilihat gambar 4.1 sampai 4.4.



Gambar 4.1. Morfologi Perawakan *Flacourtia rukam*: A. Nomor Koleksi 191. B. Nomor Koleksi 22. C. Nomor Koleksi 190. D. Nomor Koleksi 174



Gambar 4.2 Morfologi Batang *Flacourtia rukam* : A. Nomor Koleksi 35. B. Nomor Koleksi 174. C. Nomor Koleksi 22. D. Nomor Koleksi 115. E. Nomor Koleksi 156. F. Nomor Koleksi 191. G. Nomor Koleksi 190



Gambar 4.3. Morfologi Anak Ranting *Flacourtia rukam* : A. Nomor Koleksi 174. B. Nomor Koleksi 156. C. Nomor Koleksi 191. D. Nomor Koleksi 35. E. Nomor Koleksi 115. F. Nomor Koleksi 22. G. Nomor Koleksi 190



Gambar 4.4. Morfologi pada Daun *Flacourtia rukam* : A. Nomor Koleksi 156. B. Nomor Koleksi 35. C. Nomor Koleksi 190. D. Nomor Koleksi 22. E. Nomor Koleksi 115. F. Nomor Koleksi 191. G. Nomor Koleksi 174

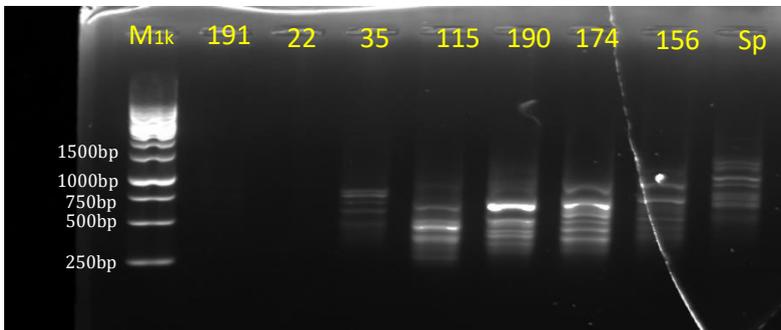
Berdasarkan Gambar 4.1 dapat diketahui bahwa dari tujuh koleksi *F. rukam* di Kebun Raya Bogor memiliki persamaan perawakan berupa pohon. Gambar 4.2 Batang *Flacourtia rukam* menunjukkan variasi morfologi variasi morfologi permukaan batang dan warna batang. Permukaan batang memiliki warna cokelat tua pada koleksi nomor 22, 115, 174, dan 156, warna cokelat keabuan dimiliki oleh koleksi nomor 35, 190, dan 191. Permukaan batang menunjukkan keragaman yang tinggi antar nomor koleksi. Hal ini dikarenakan hasil

karakterisasi memperlihatkan karakter permukaan batang yang berbeda (Tabel Lampiran 1). Tipe monopodial dari cabang batang ditunjukkan oleh enam dari tujuh nomor koleksi *Flacourtia rukam* kecuali nomor 191.

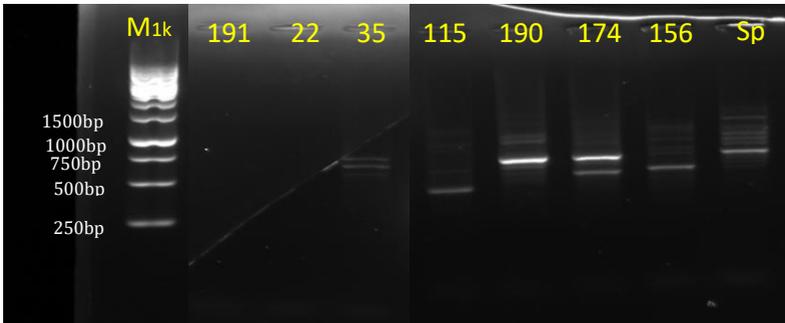
Karakter anak ranting dapat dilihat pada Gambar 4.3. Ada tidaknya duri menjadi karakter morfologi yang cukup beragam di *Flacourtia rukam*. Tiga nomor koleksi yaitu 191, 174, dan 156 menunjukkan tidak adanya duri pada anak ranting. Sedangkan nomor koleksi 22, 115, 190, dan 35 terlihat duri di sepanjang anak ranting. Gambar 4.4 menunjukkan adanya variasi fenotip yang tampak jelas antar sampel meliputi tipe bangun daun berupa ovate dan ellips serta variasi tepi daun yaitu serrate dan crenate.

2. Hasil Amplifikasi DNA oleh Empat Primer ISSR pada suhu 52°C

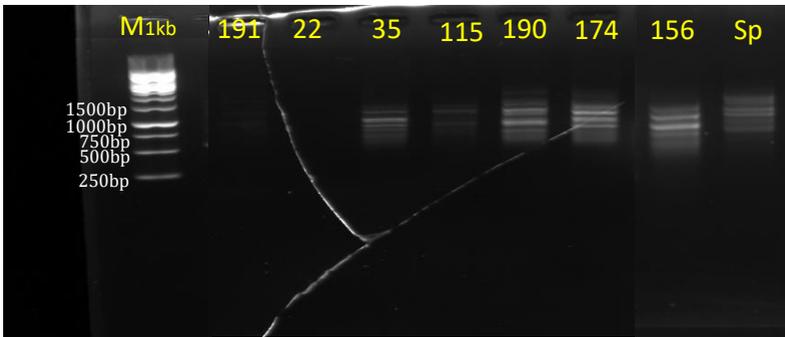
Amplifikasi DNA menggunakan empat primer ISSR berhasil menunjukkan fragmen pita DNA yang bervariasi pada masing-masing sampel *Flacourtia rukam*. Terlihat hanya sampel nomor koleksi 22 yang sama sekali tidak muncul pita DNA karena kegagalan dalam proses amplifikasi genom sampel tersebut. Amplifikasi DNA oleh marka molekuler ISSR pada sampel *Flacourtia rukam* dapat dilihat pada Gambar 4.5 sampai Gambar 4.8.



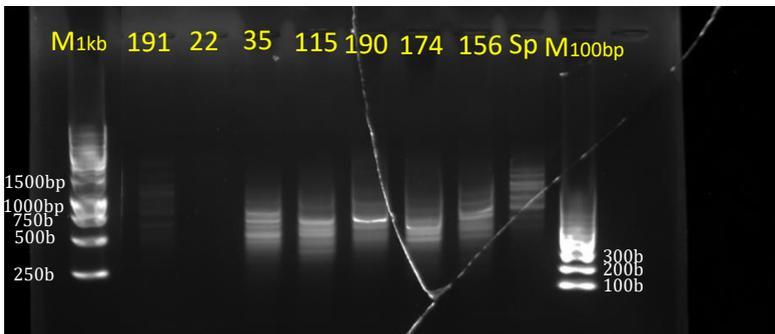
Gambar 4.5. Visualisasi pita DNA oleh primer xcup14 dengan sekuen 5'AGAGAGAGAGAGAGAGAGAG'3



Gambar 4.6. Visualisasi pita DNA oleh primer Xtxp136 dengan sekuen 5' GCAGCAGCAGCAGCA'3



Gambar 4.7. Visualisasi pita DNA oleh primer Sb6-84 dengan sekuens 5' AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG'3



Gambar 4.8. Visualisasi pita DNA oleh primer Sb4-72 dengan sekuen 5'AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG'3

Keseluruhan profil pita DNA yang dihasilkan pada proses amplifikasi primer ISSR dianggap sebagai lokus putatif sehingga hasil tersebut merupakan sidik jari DNA untuk setiap sampel. Hasil amplifikasi PCR primer ISSR (Gambar 4.5 sampai 4.8) menunjukkan adanya pita DNA yang bermacam-macam. Perbedaan tersebut disebabkan karena urutan nukleotida keempat primer yang digunakan akan melekat pada DNA genome berbeda.

Amplifikasi DNA dengan primer xcup14 (Gambar 4.5) menghasilkan visualisasi pita yang beragam. Pola pita nomor koleksi 115 dan 156, 190 dan 174 menunjukkan pola yang hampir mirip. Berdasarkan (Gambar 4.6) berhasil mengamplifikasi di enam sampel *Flacourtia* kecuali nomor 191 dan 22. Primer Sb6-84 pada (Gambar 4.7) menunjukkan adanya 2 pola pita monomorfik (± 1454 dan ± 1031) dan lainnya adalah polimorfik. Sedangkan Gambar 4.8 menghasilkan amplifikasi pita terbanyak dengan total 16 pita polimorfik. Secara keseluruhan primer ISSR berhasil mengamplifikasi genome di panjang 344-3038bp.

Tabel 4.1 Analisis Polimorfisme Hasil Amplifikasi Empat Primer ISSR

No.	Primer	TNB	NPB	PB %	PIC
1	xcup14	14	14	100	0,459
2	Xtxp136	12	12	100	0,436
3	Sb6-84	13	11	85,6	0,486
4	Sb4-72	16	16	100	0,408
Total		55	53	100	1,789
Rata-rata		13,75	13,25	100	0,447

Keterangan: TNB: *Total Number of Bands*; NPB: *Number of Polymorphic Band*; PB: *Polymorphic Band Percentage*; PIC: *Polymorphic Information Content*

Tabel 4.2 Jumlah dan ukuran pita DNA pada empat primer ISSR

No.	Primer	Jumlah Pita Polimorfik	Ukuran Pita (bp)
1.	xcup14	14	1269, 1117, 885, 773, 716, 646, 608, 584, 557, 522, 507, 487, 480, 464
2.	Xtxp136	12	1481, 1194, 1075, 953, 869, 835, 732, 674, 613, 589, 533, 484

Tabel 4.2. Lanjutan

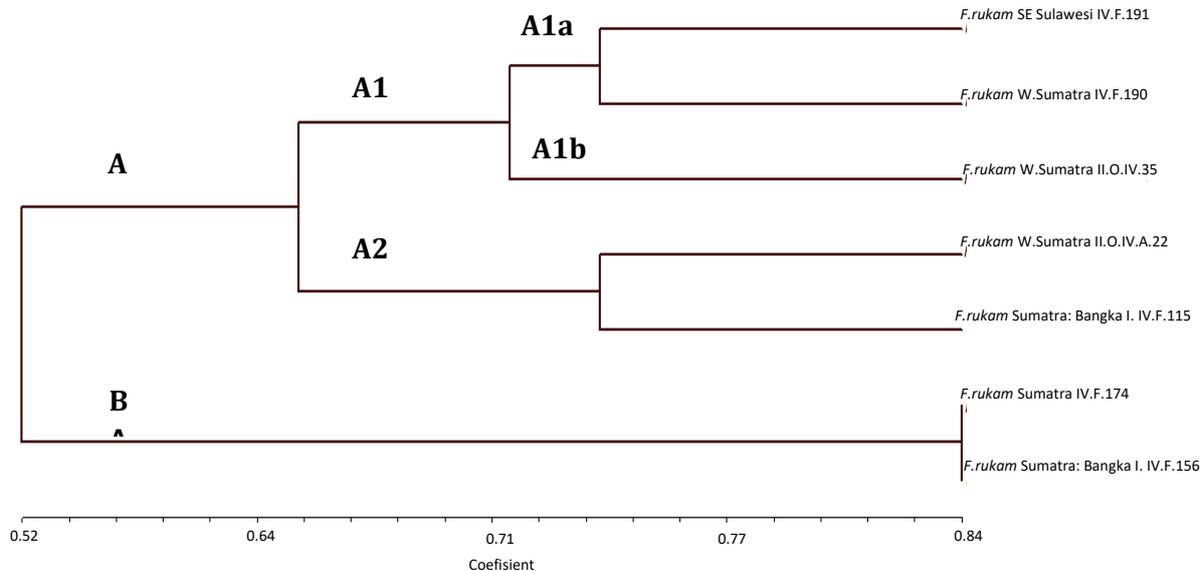
No.	Primer	Jumlah Pita Polimorfik	Ukuran Pita (bp)
3.	Sb6-84	11	2628, 2371, 2156, 2001, 1898, 1368, 969, 870, 622, 471, 344
4.	Sb4-72	16	3038, 2641, 1959, 1740, 1413, 1104, 998,990, 906, 853, 802, 659, 643, 593, 487, 397

Total Number of Bands (TNB) yang dihasilkan dari empat primer ISSR berjumlah 55 pita dengan rata-rata per primer menghasilkan 13,75 (Tabel 4.3). Total pita terbanyak ditemukan pada primer Sb4-72 berjumlah 16 pita DNA (Tabel 4.3). *Number of Polymorphic Bands* (NPB) yang terbentuk adalah 53 dikarenakan hasil amplifikasi menunjukkan dua pita monomorfik pada primer Sb6-84.

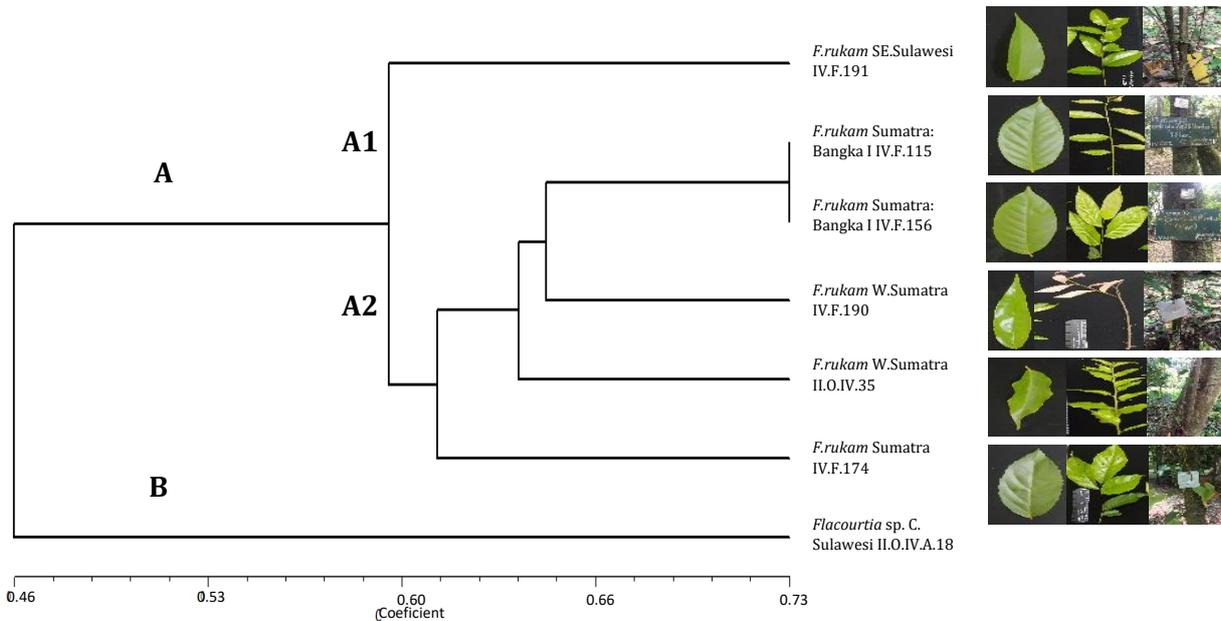
Nilai PIC yang diperoleh berkisar 0,408-0,486 dengan rata-rata yaitu 0,447. Nilai PIC terendah pada primer Sb4-72 yaitu 0,408 dan nilai tertinggi pada primer Sb6-84 yaitu 0,486. Secara berurutan primer yang memiliki nilai PIC terendah sampai tertinggi adalah Sb6-84, xcup14, Xtxp136, dan Sb4-72.

3. Dendrogram Morfologi dan Molekuler

Analisis dendrogram dari marka morfologi dan molekuler ISSR dilakukan menggunakan software NTSYSPC 2.11a dan nTedit 1.2g. Dendrogram yang dihasilkan berasal dari data skoring tiap masing-masing marka (Tabel Lampiran 2. dan Tabel Lampiran 3.). Berdasarkan gambar 4.9 dapat diketahui bahwa keseluruhan nomor koleksi *F. rukam* pada karakter morfologi bergabung membentuk kelompok berdasarkan nilai similaritas 0.57-0.84. Nomor koleksi *F. rukam* paling mirip adalah 156 dan 174 dengan nilai similaritas 0.842. Sedangkan paling berkerabat jauh adalah 156 dan 191 dengan nilai 0.473 (Tabel Lampiran 3).



Gambar 4.9. Dendrogram karakter Morfologi dengan koefisien *Simple Matching* tujuh nomor Koleksi *Flacourtia rukam* di Kebun Raya Bogor menggunakan analisis UPGMA



Gambar 4.10 Dendrogram marka Molekuler dengan koefisien *Simple Matching* mewakili hubungan genetik diantara yang ditunjukkan pada morfologi *Flacourtia rukam*

Marka molekuler ISSR mampu mendeterminasi keragaman genetik pada *Flacourtia rukam*. Kontruksi dendrogram (Gambar 4.10) menunjukkan pengelompokkan oleh marka molekuler ISSR sesuai asal observasi sampel menjadi dua kelompok utama A dan B. Kelompok A memiliki enam anggota yang terdiri dari *Flacourtia rukam* koleksi nomor 115, 174, 156, 35, 190, dan 191. Akan tetapi kelompok B hanya memiliki satu anggota yaitu *Flacourtia* sp. koleksi nomor 18 langsung terpisah pada koefisien similaritas 0.46 yang memiliki satu anggota, yaitu *Flacourtia* sp. koleksi nomor 18. Kelompok A memiliki sub kelompok A1 hanya satu anggota yaitu *Flacourtia rukam* nomor koleksi 191. Sub kelompok A2 terdiri dari lima anggota yaitu nomor koleksi 174, 35, 190, 156, dan 115. Pada kelompok A tersebut, hanya sub kelompok A1 yang memisah dengan anggota berjumlah satu pada koefisien similaritas 0,563. Hal ini diduga karena *Flacourtia rukam* tersebut berasal dari pulau yang berbeda, yaitu Sulawesi. Kemudian dari hasil dendrogram, sub kelompok A2 memisahkan ke dalam sub kelompok yang lebih kecil yaitu A2a dan A2b. Anggota dari A2a berjumlah satu, yaitu nomor koleksi 174. Pada Gambar 4.9 tampak A2a memisah dari A2b dengan nilai koefisien 0,618. Pemisahan diduga karena sampel 174 berasal dari pulau Sumatra yang di dalam katalog tidak disertai rincian daerah asal dibandingkan keempat lainnya. Anggota kelompok kecil

A2a terdiri dari *Flacourtia rukam* koleksi 115, 156, 190, dan 35 yang semuanya hasil eksplorasi di pulau Sumatera. Nomor koleksi 115 dan 156 memiliki nilai similaritas tertinggi yaitu 0.727.

Hasil pengelompokkan pada dendrogram (Gambar 4.10) cukup representatif terhadap morfologi daun. Bangun, pangkal, ujung daun merupakan karakter yang berkorelasi dengan analisis marka molekuler ISSR. Koleksi *Flacourtia rukam* paling berkerabat dekat adalah 115 dan 156 yang memiliki nilai similaritas 0.727. *Flacourtia* sp. menjadi sampel yang terpisah terhadap spesies *Flacourtia rukam* lainnya sejak awal pengelompokkan dengan nilai similaritas berkisar 0.418-0.563 (Tabel 4.2).

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Koleksi Kebun

Raya Bogor Berdasarkan Karakter Morfologi

Hasil karakterisasi terhadap 19 karakter morfologi pada *Flacourtia rukam* sebanyak tujuh nomor koleksi yang ada di Kebun Raya Bogor ditemukan adanya suatu keragaman fenotip masing-masing individu. Karakter morfologi perawakan dan batang *Flacourtia rukam* dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2. Karakter morfologi yang ada memperlihatkan keragaman genetik antar nomor koleksi. Hal ini selaras dengan karakter *Flacourtia rukam* pada umumnya yaitu berperawakan pohon setinggi ± 7 meter dan batangnya berduri (Fadiyah *et al.*, 2020), berkulit batang mengeripik, serta berwarna abu-abu atau cokelat (Backer dan Bakhulzen, 1963).

Karakteristik morfologi daun memiliki variasi yang tinggi. Adanya variasi morfologi dapat digunakan untuk pengelompokan berdasarkan karakter tersebut (Wulandari, 2021). Hasil karakterisasi morfologi daun *Flacourtia rukam* memiliki tingkat keragaman tinggi pada warna tangkai dan tepi daun. Warna tangkai menunjukkan perbedaan pada nomor koleksi 174 dan 156 yaitu merah dan hijau. Akan tetapi, nomor koleksi lainnya berwarna merah muda. Karakter tepi daun didasarkan pada jarak sinus-angulus masing-masing individu. Koleksi *F. rukam* nomor 22 memiliki tepi *serrate* jauh

dan koleksi nomor 115 bertepi *serrate* rapat. Keragaman berbeda pada tepi daun ditunjukkan oleh koleksi nomor 35 yaitu *crenate* bergelombang. Menurut Zurriyati & Dahono (2016) morfologi daun *Flacourtia rukam* berwarna merah saat muda dan tua berwarna hijau. Panjang daun 6,5 -17 cm dan lebar daun 3 – 7,5 cm (Backer dan Bakhulzen, 1963). Daunnya tunggal, berambut atau tidak, lamina membundar telur-melonjong, menjorong-melonjong, atau melonjong-memita, bagian pangkal tumpul-membundar, ujungnya meruncing, tepi bergerigi, permukaan atas dan bawahnya berambut jarang atau halus, tulang daun menonjol berjumlah 5-11 pasang (Sari & Kuswanto, 2019). Karakter tersebut berkorelasi terhadap hasil karakterisasi morfologi daun pada *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor.

Berdasarkan dendrogram hasil penelitian tujuh nomor koleksi *Flacourtia rukam* di Kebun Raya Bogor menunjukkan nilai similaritas 0,52-0,84. Hasil tersebut berasal dari dua kelompok utama dendrogram yaitu A dan B. Kelompok A terdiri dari 5 nomor koleksi, antara lain 191, 190, 35, 22, dan 115. Kelompok B hanya ada dua, yaitu nomor koleksi 174 dan 156. Kelompok tersebut memisah karena adanya perbedaan pada karakter warna tangkai daun, tepi daun, ada tidaknya duri, permukaan abaksial, dan pangkal daun. Kelompok B memiliki nilai similaritas anggotanya paling tinggi sebesar

0,84. Terdapat tiga perbedaan karakter untuk anggota kelompok B dari 19 parameter karakter morfologi, yaitu permukaan batang, warna tangkai daun, dan permukaan adaksial.

Kelompok A memiliki dua sub kelompok besar yaitu A1 yang terdiri dari nomor koleksi 191, 190, dan 35. Sedangkan A2 hanya memiliki dua nomor koleksi, 22 dan 115. Sub kelompok tersebut terpisah karena adanya perbedaan pada karakter warna kulit batang, bangun daun, dan tegasnya tulang daun. Sub kelompok besar A1, membagi sub kelompok kecil yaitu A1a yang terdiri dari dua nomor koleksi yaitu 191 dan 190. Sub kelompok kecil A1b hanya memiliki satu nomor koleksi yaitu 35. Nilai similaritas sub kelompok kecil A1a beranggota 191 dan 190 sebesar 0,73. Nilai dihasilkan dari persamaan perawakan pohon, warna batang coklat keabuan, bangun daun *ovate*, pangkal *rotundatus*, tepi daun *serrate*, warna permukaan adaksial dan abaksial yaitu hijau tua dan hijau muda, permukaan adaksial daun muda licin mengkilat, ujung daun *acuminate*, daging daun *papyraceus*, warna tangkai merah muda, permukaan adaksial dan abaksial daun dewasa licin mengkilat, tulang daun tidak tegas, dan pertulangan daun menyirip. Pemisahan kelompok antara A1a dan A1b disebabkan adanya perbedaan karakter morfologi pangkal dan tepi daun.

Analisis dendrogram pada Gambar 4.9 menunjukkan bahwa dari tujuh nomor koleksi *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor tidak membentuk suatu kelompok berdasarkan wilayah asal, melainkan dari banyaknya similaritas karakter yang dimiliki. Menurut Fatimah (2013), perbedaan lingkungan memiliki andil lebih besar daripada jarak geografi dalam memunculkan suatu keragaman genetik. Hal ini didukung oleh penelitian Fajar *et al.* (2016) bahwa semakin banyak persamaan karakter antar individu, maka semakin dekat hubungan kekerabatan dan juga sedikitnya persamaan akan memberikan jarak semakin jauh hubungan kekerabatannya yang bisa dilihat dari hasil nilai similaritas. Akan tetapi, *homoplasy* yang ditimbulkan dari akibat rekontruksi pohon dendrogram tidak dapat menggambarkan hubungan kekerabatan secara obyektif melalui karakter morfologi (Fatimah, 2013).

2. Keragaman Genetik *Flacourtia rukam* Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Marka Molekuler ISSR

Hasil optimasi suhu *annealing* menggunakan sepuluh primer ISSR (Tabel 3.3) menunjukkan empat primer ISSR (Tabel 3.4) berhasil mengamplifikasi DNA target sehingga tervisualisasi pada saat elektroforesis. Hasil optimasi untuk empat primer digunakan dalam analisis keragaman genetik *Flacourtia rukam*.

Hasil analisis molekuler ISSR ditunjukkan dengan sidik jari DNA yang digunakan untuk melihat keragaman genetik individu. Visualisasi empat primer sampel *Flacourtia rukam*, terlihat pita DNA polimorfik dan monomorfik (Gambar 4.5-4.8). Dua pita DNA monomorfik terdapat pada primer Sb6-84 dengan panjang (± 1454 bp dan ± 1031 bp). Marka molekuler ISSR berhasil menempel terhadap DNA sampel dengan rentang 344-3038bp. Kesesuaian hasil tersebut berkorelasi dengan panjang fragmen DNA ISSR berkisar 100-3000bp di wilayah mikrosatelit (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Pita DNA yang tampak pada setiap sampel bergantung pada tingkat pengenalan primer terhadap komplemennya. Menurut Yulita *et al.*, (2014) semakin banyak pita DNA yang dihasilkan, menandakan banyaknya jumlah primer menempel pada daerah DNA target. Tingkat polimorfisme yang tinggi oleh marka molekuler ISSR pada penelitian ini menandakan tingginya keragaman genetik

untuk tujuh sampel *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor.

Pita polimorfik yang dihasilkan dalam analisis molekuler ISSR (Tabel 4.3) merepresentasikan tingkat kemampuan determinasi pada *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor. Semakin tinggi nilai PIC yang dihasilkan maka akan semakin baik primer untuk digunakan dalam analisis variasi genetik organisme (Sholichah, 2019). Nilai PIC empat primer pada penelitian ini cukup representatif dalam mendeterminasi keragaman genetik *Flacourtia rukam*, dikarenakan memiliki nilai diantara 0,25 dan 0,5. Hal ini didasarkan dari pengelompokan nilai PIC oleh Carsono *et al.*, (2014) yang membagi ke dalam tiga kategori, yaitu sangat informatif ($>0,5$), sedang ($0,25 > PIC < 0,5$), dan rendah ($<0,25$).

Analisis pengelompokan *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan marka ISSR menunjukkan nilai koefisien similaritas berkisar 0,418-0,727. Nilai koefisien terendah diperoleh sampel nomor koleksi 174 dan 190 dengan *Flacourtia* sp. 18 sebesar 0,418. Nilai koefisien tertinggi ditunjukkan oleh sampel nomor koleksi 115 dengan 156 yang memiliki nilai sebesar 0,727. Menurut Sholichah (2019), suatu kelompok dikatakan memiliki hubungan kekerabatan jauh ketika nilai similaritasnya kurang dari 0,6.

Analisis dendrogram melalui marka molekuler ISSR menunjukkan pengelompokan berdasarkan wilayah asal eksplorasi *Flacourtia rukam*. Sampel nomor koleksi 115 dan 156 asal Bangka memiliki nilai similaritas tertinggi di akhir pengelompokan dendrogram. Pengelompokan *Flacourtia rukam* asal pulau Bangka tampak terpisah diantara sampel asal Sumatra lainnya mengindikasikan adanya korelasi terhadap aliran gen. Pemisahan pulau Bangka dengan Sumatra pada sejarah *Sundaland* 7.000 tahun yang lalu menjadi gambaran aliran gen yang dipengaruhi oleh jarak geografi (Wijaya dan Ismi, 2021; Fatimah, 2013). Kesamaan struktur genetik antara nomor koleksi *F. rukam* Sumatra dan Bangka memiliki nilai similaritas cukup dekat yaitu >0.6 . Menurut Nurtjahjaningsih *et al.*, (2014) hal ini dapat terjadi disebabkan oleh adanya percampuran gen oleh peran manusia.

Pemisahan *Flacourtia* sp. sejak awal terhadap *Flacourtia rukam* lainnya dapat dilihat pada (Gambar 4.10) yang mengindikasikan bahwa *Flacourtia* sp. bukan termasuk jenis dari *Flacourtia rukam* karena hasil nilai similaritasnya tergolong jauh. Nilai similaritas terhadap *F. rukam* lain hanya berkisar 0.418-0.563 dengan nilai tertinggi yaitu *Flacourtia* sp. dengan *F. rukam* nomor 191 asal pulau yang sama yaitu Sulawesi. Kesesuaian hasil tersebut dengan sejarah *Sundaland* yang terpisah terhadap pulau Sulawesi sejak 21.000 tahun lalu

(Wijaya dan Ismi, 2021) memperkuat dasar penggunaan DNA untuk analisis keragaman genetik karena memiliki keuntungan sulit dipengaruhi oleh lingkungan, memiliki daerah *conserve*, dan stabil (Purnomo & Ferniah, 2018).

3. Korelasi antara karakter morfologi dan marka molekuler ISSR terhadap keragaman genetik *Flacourtia rukam* Zoll. & Mor. Koleksi Kebun Raya Bogor

Analisis kluster tujuh nomor koleksi *Flacourtia rukam* berdasarkan dua marka yaitu morfologi dan molekuler menghasilkan pola pengelompokan yang berbeda. Nilai koefisien similaritas tujuh nomor koleksi *Flacourtia rukam* berdasarkan marka morfologi berkisar 0,47-0,84 dan marka molekuler sebesar 0,418-0,727. Nilai koefisien similaritas tertinggi marka morfologi yaitu nomor koleksi 174 dan 156 dengan nilai 0,84. Marka molekuler nomor koleksi 115 dan 156 memiliki nilai koefisien similaritas tertinggi yaitu 0,727. Berdasarkan hasil tersebut tiga individu memiliki korelasi terhadap dua marka, yaitu morfologi dan molekuler dengan nilai masing-masing $>0,6$. Menurut Sholichah (2019) suatu kelompok dikatakan memiliki hubungan kekerabatan jauh ketika nilai similaritasnya $<0,6$ dan kekerabatan dekat jika $>0,6$.

Dendrogram pada Gambar 4.10 menunjukkan pemisahan sub kluster A1 beranggotakan satu nomor koleksi yaitu IV.F.191. Berdasarkan karakter morfologi *F. rukam* 191 memiliki perbedaan cukup jelas dibanding nomor koleksi lainnya. Perbedaan terlihat di bagian permukaan dan tipe

percabangan batang dan morfologi daun yang meliputi bangun, tepi dan pangkal (Tabel Lampiran 1). Oleh karena itu, *F. rukam* 191 dari Sulawesi ini memiliki keragaman genetik yang cukup luas sehingga memisah dari individu asal Sumatra lainnya. Sub klaster A2 yang memisahkan kelompok lebih kecil lagi, menunjukkan pembagian berdasarkan lokasi hasil observasi *F. rukam*. Pengelompokan tersebut selaras dengan similaritas dari tiap individu berdasarkan warna permukaan batang dan morfologi daun yang terlihat mirip. *F. rukam* nomor koleksi 174 dari Sumatra yang tidak diketahui rincian asalnya memisah paling awal dibanding sub klaster A2 lain. Indikasi pemisahan diperkuat dari perbedaan karakter morfologi permukaan batang yaitu *complex spine*. Sampel *F. rukam* 156 dan 115 menunjukkan paling berkerabat dekat jika ditinjau dari aspek molekuler dan morfologi karena diperkuat oleh asal observasi yang sama yaitu Sumatra: Bangka.

Persamaan atau perbedaan ukuran pita DNA yang dimiliki oleh *Flacourtia rukam* belum tentu merupakan DNA yang menjadi karakter morfologi pengamatan. Beragam variasi karakter pada tiap individu dipengaruhi oleh banyak faktor, meliputi lingkungan, genetik, bias saat melakukan pengamatan (Hendaru *et al.*, 2017), dan jarak geografi (Fatimah, 2013). Perbedaan karakter antar individu yang diuji dapat menjadi

alasan adanya pengaruh faktor eksternal maupun internal sehingga memunculkan keragaman genetik pada tiap individu.

Berdasarkan analisis korelasi diantara marka morfologi dan molekuler pada *Flacourtia rukam* mengindikasikan adanya sebagian yang saling berkorelasi. Marka morfologi memiliki keterbatasan dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sedangkan marka molekuler sulit terpengaruh faktor tersebut. Analisis marka morfologi dan molekuler sebagian saling berkorelasi pada penelitian ini, didukung oleh penelitian Damayanti *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa karakter kualitatif dari morfologi sebagian tidak dipengaruhi oleh lingkungan, seperti karakteristik bentuk daun, pola lekuk, tepi, dan lainnya. Sedangkan karakter kuantitatif dapat dipengaruhi oleh interaksi antara gen dengan faktor kondisi lingkungan (Fatimah, 2013).

Karakterisasi berbagai parameter morfologi (Tabel Lampiran 1) yang bersifat kualitatif, memperkuat adanya korelasi antara analisis keragaman genetik *Flacourtia rukam* dengan marka morfologi dan molekuler. Dendrogram dari marka molekuler tersebut menunjukkan pengelompokan yang cukup jelas berdasarkan hasil lokasi observasi dan beberapa karakter morfologi. Menurut Syahputra *et al.*, (2017), analisis tersebut dapat mengidentifikasi pengelompokan

setiap genotip berdasarkan karakter tertentu, seperti letak geografi, jenis atau aksesori, karakter spesifik, dan populasi tetua. Perbedaan letak geografi menjadi pemicu variasi genetik dan morfologi sehingga mampu mengelompok berdasarkan lokasi observasi. Menurut Tenda *et al.*, (2009), terdapat variasi lingkungan makro geofisik yang sangat besar di Indonesia. Hal inilah yang memberikan keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* cukup beragam antar nomor koleksi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Keragaman genetik *Flacourtia rukam* mengelompok berdasarkan banyak sedikitnya karakter morfologi dengan organ daun paling representatif untuk analisis klaster menggunakan karakter morfologi.
2. Konstruksi dendrogram mengelompok berdasarkan asal wilayah eksplorasi *Flacourtia rukam*. Nilai PIC dari empat primer ISSR semuanya <0.5 sehingga primer cukup representatif dalam mendeterminasi keragaman genetik *Flacourtia rukam*.
3. Sebagian karakter marka morfologi dan molekuler yang saling berkorelasi ditunjukkan oleh karakter kualitatif morfologi daun seperti bangun dan tepi daun yang cenderung sulit dipengaruhi faktor lingkungan sehingga diindikasikan representatif terhadap analisis marka molekuler ISSR pada *Flacourtia rukam*.

B. Saran

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya:

1. Optimasi suhu annealing perlu dilakukan kembali pada *Flacourtia rukam* koleksi II.O.IV.A.22 karena penelitian ini belum berhasil teramplifikasi oleh primer ISSR;
2. Nilai PIC empat primer ISSR <0.5 , sehingga perlu penggunaan marka lain untuk mengetahui kemampuan determinasi keragaman genetik pada *Flacourtia rukam* yang lebih informatif;
3. *Flacourtia* sp. koleksi II.O.IV.A.18 di Kebun Raya Bogor perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan pembandingan spesies *Flacourtia* lain supaya dapat ditentukan jenis *Flacourtia* yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D., Martasari, C., Supriyanto, & Arry. 2007. Perbedaan Primer RAPD dan ISSR dalam Identifikasi Hubungan Kekerabatan Genetik Jeruk Siam (*Citrus suhuniensis* L. Tan) Indonesia. *J. Hort.* 17(2): 101–110.
- Al-Mahally, Jalaluddin, I., & As-Syuyuti, I. J. 1990. *Tafsir Jalalain Jilid II*. Sinar Baru.
- Anne, C. 2006. Choosing the Right Molecular Genetic markers for Studying Biodiversity: from Molecular Evolution to Practical Aspects. *Genetica*. 127: 101–120.
- Anton, Fitmawati, & Sofiyanti, N. 2014. Analisis Hubungan Kekerabatan Macang (*Mangifera foetida* Lour.) di Sumatera bagian Tengah. *Jurnal Online Mahasiswa*. 1(1).
- Apriliyanti, N. F., Seotopo, L., & Respatijarti. 2016. Keragaman Genetik pada Generasi F3 Cabai (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(3): 209–217.
- Ariati, S. ., Astuti, R. ., Supriyatna, I., Yuswandi, A. Y., Setiawan, A., Saftaningsih, D., & Pribadi, D.O. 2019. *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Bogor Botanic Garden*. Center for Plant Conservation Botanical Garden.
- Aulia, R. 2016. *Analisis Keragaman Genetik Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Berdasarkan Primer SSR (Simple Sequence Repeats)* (p. 12). Skripsi. Medan: Universitas Sumatera

Utara.

- Backer, C.A dan R.C. Bakhuizen V.D Brink. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only) Volume I*. Groningen: N.V.P.Noordhoff
- Bani, P.W., Daryono, B.S., & Purnomo. 2017. Penanda Molekuler Inter Simple Sequence Repeat untuk Menentukan Ketahanan Tanaman Jagung Terhadap Penyakit Bulai. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(4): 127-135.
- Batani, M. ., Behnezhad, S., Derakhshan, M., Hajiaghayi, M. ., Kiveris, R., Lattanzi, S., & Mirrokni, V. 2017. *Affinity Clustering: Hierarchical Clustering at Scale*. 31st Conference on Neural Information Processing System. <https://papers.nips.cc/paper/2017>
- Carsono, N., Lukman, P. N., Damayanti, F., Susanto, U., & Santika Sari. 2014. Identifikasi Polimorfis Marka-Marka Molekuler yang Diduga Berkaitan dengan Karakter Daya Hasil Tinggi pada 30 Genotip Padi. *Chimica et Natura Acta*. 2(1): 91-95.
- Chase, M. W., Zmarzty, S., Lledo, M. D., Wurdack, K. J., Swensen, S. M., & M. F. Fay. 2002. When in doubt, put it in *Flacourtiaceae*: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. *KEW BULLETIN*, 57(1), 141-181.
- Damayanti, F., A'ini, Z.F., Marhento, G. 2021. Data Keragaman

- Genetik Berdasarkan Karakter Morfologi pada Beberapa Aksesori Plasma Nutfah Ubi Jalar. *Edubiologia: Biological Science and Education Journal*. 1(1): 7-14
- Dharmayanti, N. I. . 2011. Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*. 21(1): 1-10.
- Fadiyah, I., Iin, L., & Mahardika R.G. 2020. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Indo. J. Chem. Res.* 7(2):107-113.
- Fajar, M.T.I., Purnomo., Handayani, N.S.N. 2016. Hubungan Kekerabatan Fenetik *Lycopersion esculentum* Mill. Kultivar *Betavila F1*, *Fortuna F1*, dan *Tymoti F1* Berdasarkan Tingkat Kesamaan Fenotip. *Biota*. 1(2): 91-97
- Fatimah, S. 2013. Analisis Morfologi dan Hubungan Kekerabatan Sebelas Jenis Tanaman Salak (*Salacca zalacca* (Gertner) Vos Bangkalan. *Agrivor*. 6(1): 1-15
- Fauziah, S. M. 2017. *Deteksi Keragaman genetik Menggunakan Penanda ISSR (Inter Simple Sequence epeat) dan Keragaman Fenotip pada Tanaman Krisan (Dendranthema grandilora Tzvelev) Varietas Pink Fiji yang Diinduksi dengan EMS (Ethyl Methanesulfonate) Secara In Vitro*. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik

Ibrahim.

- Fitri, N., Ulandari, S. ., Waldani, O. ., Noviyani, S., & Allwar. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rukam (*Flacourtia rukam*) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pkrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kimia-Lombok*.
- Foster, A. S., & Gifford, E. M. 1974. *Comparative Morphology of Vascular Plants* (Second). W.H Freeman and Company.
- Gunawan, H., Sugiarti, Wardani, M., & Mindawati, N. 2019. *100 Spesies Pohon Nusantara Target Konservasi Ex Situ Taman Keanekaragaman Hayati* (T. Partomiharjo (ed.)). IPB Press.
- Hadiyanti, N., Supriyadi, & Pardono. 2018. Keragaman Beberapa Tumbuhan Ciplukan (*Physalis spp.*) di Lereng Gunung Kelud, Jawa Timur. *Berita Biologi*. 17(2): 135–146.
- Hafizah, R. ., Adawiyah, R., Harahap, R. M., Hannum, S., & P.J. Santoso. 2018. Aplikasi Marka Ssr Pada Keanekaragaman Genetik Durian (*Durio Zibethinus Murr.*) Di Kabupaten Deli Serdang, Sumatra Utara. *Al-Kaunyah*. 11(1): 49–56.
- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. 2(1): 21-26

- Herman, H., Natalya, L. N., Berampu, S. ., & D.I Roslim. 2017. Optimasi Suhu Annealing untuk Primer g-SSR dan EST-SSR pada Kacang Hijau (*Vigna radiata* L). *Jurnal Dinamika Pertanian*. 33(1): 95–102.
- Hikmah, R., Retnoningsih, A., & NA Habibah. 2016. Keragaman Durian Berdasarkan Fragmen Internal Transcribed Spacers (ITS) DNA Ribosomal Melalui Analisis PCR-RFLP. *Jurnal MIPA*. 39(1): 11–18.
- ITIS. 2011. *Taxonomic Hierarchy Flacourtia rukam Zoll. & Moritzi*.
<https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt>
- Kota, G.C ., Karthikeyan, M., Kannan, M., & Rajasekar. 2012. *Flacourtia indica* (Burm. f) Merr.-A Phytopharmacological. *Inter. J. Res. Pharm and Biomed Sci*. 3(1): 78–81.
- Lemke, D. E. 1988. A Synopsis of *Flacourtiaceae*. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*. 12(1): 29–43.
- Lestari, R., Sholihah, S. M., Aprilianti, P., Hartini, S., Wawangningrum, H., Agustin, E. K., Sahromi, W, A. R. U., Munawaroh, S., & Permatasari, P.A. 2017. *Koleksi Tumbuhan Kebun Raya Katingan* (J. R. Witono & Yuzammi (eds.)). Lipi Press.
- LIPi. 2016. *Laporan Tahunan Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPi Tahun 2015*.

- Listyarini, D. 2017. *Laboratorium Pencegah Kepunahan Tumbuhan Kebun Raya Bogor*. <https://nationalgeographic-grid-id.cdn.ampproject.org>
- Maftuchah, W., Aris, W., & Zainuddin, A. 2014. *Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler*. Deepublish Publisher.
- Mondal, T. 2002. Assesment of Genetic Diversity of Tea (*Camelia sinensis* L. Kuntze) by Inter-Sequence Repeated Polymerase Reaction. *Euphytia*, 128, 307–315.
- Nugroho, K., Terryana, R. T., Reflinur, A, & Lestari, P. 2017. Analisis Keragaman Genetik Kedelai Introduksi Menggunakan Marka Mikrosatelit. *Informatika Pertanian*, 26(2): 121–132.
- Nurrani, L., Tabba, S., & Mokodompit, H.S. 2015. Kearifan Lokal dalam Pemanfaatan Tumbuhan Obat oleh Masyarakat di Sekitar Taman Nasional Aketajawe Lolobata, Provinsi Maluku Utara. *Jurnal Penelitian Sosial Dan Ekonomi Kehutanan*. 12(3): 163–175.
- Nurtjahjningsih, ILG., Qiptiyah, M., Pamungkas, T. 2014. Karakterisasi Keragaan Genetik Populasi Jabon Putih Menggunakan Penanda *Random Amplified Polymorphism DNA*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 9(2), 81-92
- Pangkey, M., Wahibah, N. N., & Sofiyanti, N. 2014. Polimorfisme Peroksidase Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) di Hutan PT. Diamond Raya Timber Provinsi Riau. *JOM*

- FMIPA*. 1(2): 340–350.
- Pradityo, T., Santoso, N., & Zuhud, E.A.M. 2016. Etnobotani di Kebun Tembawang Suku Dayak Iban, Desa Sungai Mawang, Kalimantan Barat. *Media Konservasi*. 21(2): 183–198.
- Purnomo, E., & Ferniah, R.S. 2018. Polimorfisme Cabai Rawit dan Cabai Gendot dengan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Menggunakan Primer OPA-8. *Berkala Bioteknologi*. 1(1): 1–5.
- Putri, D. V., Lestari, F., & Widiya, M. 2019. Uji Daya Antibakteri Sari Pati Daun Rukam (*Flacourtia rukam*) Terhadap Zona Hambat *Escherichia coli*. *Jurnal Biosilampari*, 2(1), 23–28. <https://doi.org/10.31540/biosilampari.v2i1.525>
- Rahayu, S. E., & Handayani, S. 2011. Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat Berdasarkan Penanda Inter Simple Sequence Repeat. *MAKARA of Science Series*, 14(2), 158–162. <https://doi.org/10.7454/mss.v14i2.742>
- Rifatunidaudina, R., Sobir, & Maharijaya, A. 2019. Keanekaragaman Sumberdaya Genetik Sayuran Polong Potensial di Indonesia Berdasarkan Penanda Molekuler ISSR. *J. Hort. Indonesia*. 10(3): 161–172.
- Rohmana, A., Fuad, M., I. Ulfin., 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*. 5(2): 130-133
- Sa'diyah, N., Widiastuti, M., & Ardian. 2013. Keragaan, Keragaman, dan Heritabilitas Karakter Agronomi Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) Generasi F1 Hasil Persilangan Tiga Genotipe. *J. Agrotek Tropika*. 1(1): 32-37.
- Saputra, F. R. 2014. *Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin pada Kapsul Keras*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Saragih, R., Saptadi, D., Zanetta, C.U., Waluyo, B. 2018. Keanekaragaman Genotipe-Genotipe Potensial dan Penentuan Keragaman Karakter Agro-Morfologi Ercis (*Pisum sativum* L.). *Jurnal Agro*. 5(2): 127-139
- Sari, P. D., & Kuswanto. 2019. Studi Karakterisasi dan Keragaman Sifat Kualitatif Tanaman Rukam (*Flacourtia rukam* Zoll. & Mor.). *Plantropica: Journal of Agricultural Science*. 4(2): 167-176.
- Sari, V. R. 2012. *Variasi Morfologi Tanaman Karpel (*Stelechocarpus burahol* Hook. F dan Thomson) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda* (p. 15). Universitas Airlangga.

- Siregar, U. J., & Olivia, R.D. 2012. Keragaman Genetik Populasi Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada Hutan Rakyat di Jawa Berdasarkan Penanda RAPD. *Silvikultur Tropika*, 3(2).
<https://doi.org/https://doi.org/10.29244/j-siltrop.3.2.%25p>
- Sholichah, L. 2019. *Karakterisasi Geno Kultivar Pisang Berdasarkan Marka Morfologi dan Marka Molekuler RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)*. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim
- Sneath, P.H dan Sokal, R.R. 1973. *Numerical Taxonomy-The Principles and Practice of Numerical Classification*. San Fransisco: W.H. Freean and Company
- Subositi, D., Harto, W., & Nita, S. 2016. Skrining Marka ISSR untuk Autentikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.). *Bul. Plasma Nutfah*. 22(1): 49–54.
- Sugiantari, N. L. P. R., Junitha, I. K., & E. Kriswiyanti. 2015. Analisa Keragaman Genetik Kelapa Rangka (*Cocos nucifera* L) di Bali Berdasarkan Penanda DNA Mikrosatelit. *Jurnal Simbiosis*. 3(1): 334–337.
- Sukmawati. 2017. *Analisis Cluster dengan Metode Hierarki untuk Pengelompokan Kaupaten/Kota di Provinsi Sulawesi Selatan Berdasarkan Indikator Makro Ekonomi*. UIN Alauddin.

- Sulima, P., & Przyorowski, J.A. 2013. Genetic Diversity of *Salix Purpurea* L. Genotypes and Interspecific Hybrids. *Acta Biologica Cracoviensa Series Botanica*. 55(2): 29–36. <https://doi.org/10.2478/abcsb-2013-0020>
- Sunaryo, W. 2015. Aplikasi DNA Barkoding untuk Analisis Keanekaragaman Genetik Lai-Durian (*Durio zithinus* x *kutejensis*) Asal Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Iodiversitas Indonesia*: 1273–1277.
- Suparman, & Papuangan, N. 2012. Analisis Kekerbatan Fenetik Enam Populasi Tumbuhan Jamlang (*Eugenia jambolana* Lamk.) di Pulau Ternate, Tidore, dan Maitara Berdasarkan Organ Vegetatif. *Vegetasi*. 2(2).
- Syahputra, I., Putri, L.A.P., & Basyuni, M. 2017. Identifikasi Keragaman Molekuler Material Genetik Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Berdasarkan Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*). *Jurnal Pertanian Tropik*. 4(1): 57-64
- Tenda, E., Tulalo, M., & Miftahurrohman. 2009. Hubungan Kekerbatan Genetik Antar Sembilan Aksesori Kelapa Asal Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Listri*. 15(3): 139-144
- Ubaidilla, R., & H. Sutrisno. 2012. *Pengantar Biosistemika: Teori dan Praktik*. LIPI Press.
- Utami, D. W., Santoso, T. J., & Handayani, N. 2012. Sidik jari DNA Plasma Nutfah mangga Berdasarkan Analisis Fragmen Marka SSR (Simple Sequence Repeat) Berlabel. *J. Hort.*

- Indonesia*. 3(1): 49–57.
- Wijaya, T dan Ismi, N. 2021. *Di Masa Lalu, Apakah Pulau Bangka dan Sumatra Terhubung?*. <https://www.mongabay.co.id>. Diakses pada tanggal 20 Mei 2022
- Wulandari, D. 2021. *Peningkatan Performa Pertumbuhan Benih Ikan ewa (Tor sor) Melalui Penambahan Enzim Papain pada Pakan Buatan*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Wulandari, T. 2018. *Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat di Desa Pagar Dalam, Pelita Jaya, Tanjung Raya dan Ulok Manek Kecamatan Pesisir Selatan Kabupaten Pesisir Barat*. UIN Raden Intan.
- Yulita, K. S., Ahmad, F., Martanti, D., Poerba, Y.S. & Herlina. 2014. Analisis Keragaman Genetik Kentang Hitam (*Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel) Berdasarkan Marka ISSR dan RAPD. *Berita Biologi*. 13(2): 127–135.
- Yulita, K. S. & Naiola, B.P. 2013. Keragaman Genetik Beberapa Aksesori Jagung dari Nusa Tenggara Timur Berdasarkan Profil Inter Short Sequence Repeat (ISSR). *Jurnal Biologi Indonesia*. 9(2): 255–263.
- Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek*. 5(6).

- Zulkarnaen, R. & Andila, P. . 2015. *Dendrocalamus* spp.: Bambu Raksasa Koleksi Kebun Raya Bogor. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*: 534–538.
- Zurriyati, Y., & Dahono. 2016. Keragaman Sumber Daya Genetik Tanaman Buah-buahan Eksotik di Kabupaten Bintan, Provinsi Kepulauan Riau. *Bul. Plasma Nutfah*. 22(1): 11–20.

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Karakter Morfologi *Flacourtia* rukam Koleksi Kebun Raya Bogor

No.	Ciri Morfologi	Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)						
		191	22	115	190	174	156	35
1.	Perawakan	Pohon	Pohon	Pohon	Pohon	Pohon	Pohon	Pohon
	Batang							
	Tipe							
2.	Percabangan	Sympodial	Monopodial	Monopodial	Monopodial	Monopodial	Monopodial	Monopodial
3.	Warna Kulit Batang	Cokelat Keabuan	Cokelat tua	Cokelat tua	Cokelat keabuan	Cokelat tua	Cokelat tua	Cokelat keabuan
4.	Permukaan Batang	Siple spine and lots of lenticels	Complex spine	Lot of lenticels and flaky	Lot of lenticels	Complex spine	Flaky	Flaky and simple spine

Tabel lampiran 1. Lanjutan

No.	Ciri		Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)						
	Morfologi		191	22	115	190	174	156	35
	Ranting								
5.	Ada tidaknya duri	Tidak berduri	Berduri	Berduri	Berduri	Berduri	Tidak berduri	Tidak berduri	Berduri
	Daun								
6.	Bangun	Ovate	Ellips	Ellips	Ovate	Ellips	Ellips	Ellips	Ovate
7.	Pangkal	Rotundatus	Rotundatus	Rotundatus	Rotundatus	Rotundatus	Obtusus	Obtusus	Obtusus
8.	Tepi	Serrate	Serrate jauh	Serrate rapat	Serrate	Serrate	Crenate	Crenate	Crenate bergelom bang

Tabel lampiran 1. Lanjutan

No	Ciri		Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)					
	Morfologi	191	22	115	190	174	156	35
	Permukaan							
12.	Abaksial (muda)	Licin suram	Licin mengkilat	Licin suram	Licin mengkilat	Licin suram	Licin suram	Licin suram
13.	Ujung	Acuminate	Acuminate	Acuminate	Acuminat e	Acuminat e	Acuminat e	Acuminat e
14.	Daging	Papyraceus	Papyraceus	Papyraceus	Papyraceu s	Papyraceu s	Papyraceu s	Papyraceu s
15.	Warna Tangkai	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah	Hijau	Merah muda
16.	Permukaan Adaksial	Licin mrngkilaat	Licin mengkilat	Licin mengkilat	Licin mengkilat	Licin mengkilat	Licin suram	Licin mengkilat

Tabel lampiran 1. Lanjutan

No	Ciri	Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)						
		Morfologi	191	22	115	190	174	156
17.	Permukaan	Licin	Licin	Licin suram	Licin	Licin	Licin	Licin
	Abaksial	mengkilat	mengkilat		mengkilat	mengkilat	suram	mengkilat
18.	Tulang	Tidak tegas	Tegas	Tegas	Tidak tegas	Tegas	Tegas	Tidak tegas
	Cabang							
19.	Tulang	Menyirip	Menyirip	Menyirip	menyirip	Menyirip	Menyirip	Menyirip
	Daun							

Tabel Lampiran 2. Hasil Skoring karakter morfologi *Flacourtia rukam* koleksi Kebun Raya Bogor

No	Ciri Morfologi	Sifat Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>) Nomor Koleksi						
		191	22	115	190	174	156	35
1.	Perawakan	1	1	1	1	1	1	1
	Batang							
2.	Tipe Percabangan	1	2	2	2	2	2	2
3.	Warna Kulit Batang	1	2	3	3	3	3	2
4.	Permukaan Batang	1	2	3	4	2	5	6
	Ranting							
5.	Ada tidaknya duri	1	2	2	2	1	1	2
	Daun							
6.	Bangun	1	2	2	1	2	2	1
7.	Pangkal	1	1	1	1	2	2	2
8.	Tepi	1	2	3	1	4	4	5
	Warna Permukaan (dewasa)							
9.	Adaksial	1	1	1	1	1	1	1

Tabel lampiran 2. Lanjutan

No	Sifat Morfologi	Sifa Ciri (<i>Flacourtia rukam</i>)						
		Nomor Koleksi						
10.	Abaksial	1	1	1	1	1	1	1
	Warna Permukaan (muda)							
11.	Adaksial	1	1	1	1	1	1	1
12.	Abaksial	1	2	1	2	1	1	1
13.	Ujung	1	1	1	1	1	1	1
14.	Daging	1	1	1	1	1	1	1
15.	Warna Tangkai	1	1	1	1	2	3	1
	Permukaan (daun dewasa)							
16.	Adaksial	1	1	1	1	1	2	1
17.	Abaksial	1	1	2	1	2	2	1
18.	Tulang	1	2	2	1	2	2	1
19.	Cabang Tulang Daun	1	1	1	1	1	1	1

Tabel Lampiran 3. Similaritas Koefisien SM dari marka morfologi *Flacourtia rukam* di Kebun Raya Bogor

	191	22	115	190	174	156	35
191	1.000						
22	0.578	1.000					
115	0.578	0.736	1.000				
190	0.736	0.736	0.684	1.000			
174	0.526	0.631	0.736	0.526	1.000		
156	0.473	0.526	0.684	0.473	0.842	1.000	
35	0.684	0.684	0.631	0.736	0.578	0.526	1.000

Tabel Lampiran 4. Similaritas koefisien SM dari marka molekuler ISSR pada *Flacourtia* di Kebun Raya Bogor

	191	115	190	174	156	35	Sp
191	1.000						
115	0.618	1.000					
190	0.563	0.618	1.000				
174	0.563	0.618	0.600	1.000			
156	0.600	0.727	0.672	0.636	1.000		
35	0.618	0.709	0.618	0.581	0.581	1.000	
Sp	0.563	0.472	0.418	0.418	0.454	0.472	1.000

Tabel Lampiran 5 Hasil skoring pita DNA oleh empat primer ISSR

Primer Xcup14

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
B1	0	0	0	0	0	0	1
B2	0	0	0	0	0	0	1
B3	0	0	0	0	0	0	1
B4	1	1	1	0	1	1	1
B5	0	1	0	0	0	0	0
B6	1	1	0	0	0	1	1
B7	0	1	0	0	1	0	1
B8	0	1	1	1	0	0	0
B9	0	0	0	0	1	0	0
B10	0	1	1	1	1	1	0
B11	0	0	1	1	1	1	0
B12	0	0	1	1	1	0	0
B13	0	0	0	1	0	0	0
B14	0	0	1	0	0	0	0

Primer Xtxp136

	F191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
B1	0	0	0	0	0	0	1
B2	0	0	0	1	0	0	1
B3	0	0	0	0	0	1	1
B4	0	0	0	1	0	0	1
B5	0	0	0	1	0	1	1
B6	0	0	1	0	0	0	1
B7	0	0	1	0	0	1	1
B8	0	1	0	1	1	0	0
B9	0	0	0	0	1	0	1
B10	0	0	0	1	0	1	0
B11	0	1	1	1	1	0	0
B12	0	0	1	0	0	0	0

Primer Sb6-84

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
B1	0	0	0	1	0	0	0
B2	1	0	0	0	1	0	0
B3	1	0	0	1	0	0	0
B4	0	0	0	1	1	0	0
B5	0	0	1	1	1	0	0
B6	1						
B7	0	1	0	1	1	0	1
B8	1						
B9	0	1	1	0	1	0	1
B10	0	1	0	0	0	1	1
B11	0	1	0	0	0	1	1
B12	0	0	0	0	0	1	0
B13	0	0	0	0	0	1	0

Primer Sb4-72

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
B1	1	0	0	0	0	0	0
B2	0	0	0	0	0	0	1
B3	1	0	0	0	0	0	1
B4	1	0	0	0	0	0	1
B5	0	0	0	0	0	0	1
B6	1	0	0	0	0	0	0
B7	0	0	0	0	0	0	1
B8	0	1	0	1	0	1	0
B9	0	0	1	0	0	0	1
B10	0	1	0	0	1	1	0
B11	0	1	1	1	0	1	0
B12	0	1	0	0	1	0	0
B13	0	0	1	0	1	1	0
B14	0	1	1	0	1	1	0
B15	0	0	1	0	0	0	0

Tabel Primer Sb4-72 *Lanjutan*

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
B16	0	0	1	0	0	0	0

Tabel Lampiran 6. Gabungan hasil skoring oleh empat primer ISSR

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
1	0	0	0	0	0	0	1
2	0	0	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0	0	1
4	1	1	1	0	1	1	1
5	0	1	0	0	0	0	0
6	1	1	0	0	0	1	1
7	0	1	0	0	1	0	1
8	0	1	1	1	0	0	0
9	0	0	0	0	1	0	0
10	0	1	1	1	1	1	0
11	0	0	1	1	1	1	0
12	0	0	1	1	1	0	0
13	0	0	0	1	0	0	0
14	0	0	1	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	1

Tabel lampiran 5. Lanjutan

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
16	0	0	0	1	0	0	1
17	0	0	0	0	0	1	1
18	0	0	0	1	0	0	1
19	0	0	0	1	0	1	1
20	0	0	1	0	0	0	1
21	0	0	1	0	0	1	1
22	0	1	0	1	1	0	0
23	0	0	0	0	1	0	1
24	0	0	0	1	0	1	0
25	0	1	1	1	1	0	0
26	0	0	1	0	0	0	0
27	0	0	0	1	0	0	0
28	1	0	0	0	1	0	0
29	1	0	0	1	0	0	0
30	0	0	0	1	1	0	0
31	0	0	1	1	1	0	0

Tabel lampiran 5. Lanjutan

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
32	1	1	1	1	1	1	1
33	0	1	0	1	1	0	1
34	1	1	1	1	1	1	1
35	0	1	1	0	1	0	1
36	0	1	0	0	0	1	1
37	0	1	0	0	0	1	1
38	0	0	0	0	0	1	0
39	0	0	0	0	0	1	0
40	1	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	1
42	1	0	0	0	0	0	1
43	1	0	0	0	0	0	1
44	0	0	0	0	0	0	1
45	1	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	1
47	0	1	0	1	0	1	0

Tabel lampiran 5. Lanjutan

	Fr191	Fr115	Fr190	Fr174	Fr156	Fr35	Sp
48	0	0	1	0	0	0	1
49	0	1	0	0	1	1	0
50	0	1	1	1	0	1	0
51	0	1	0	0	1	0	0
52	0	0	1	0	1	1	0
53	0	1	1	0	1	1	0
54	0	0	1	0	0	0	0
55	0	0	1	0	0	0	0



Gambar Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan selama penelitian skripsi: A-B (pengambilan sampel dan pengamatan morfologi), C-D (*Tiangen plant genomic DNA kit*, penggerusan sampel, ekstraksi DNA), F-H (primer ISSR, sampel PCR, amplifikasi DNA), I-L (elektroforesis dan visualisasi pita DNA)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Muhammad Ramdhani Arfan
2. Tempat/Tanggal Lahir : Kendal/18 Desember 1999
3. Alamat Lengkap : Sabranglor Barat RT 04 RW
06, Kutoharjo, Kaliwungu,
Kendal
4. Nomor HP. : 081805947000
5. Email : ramdhaniarfan38@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. SD Negeri 02 Kutoharjo-2012
 - b. SMP Negeri 1 Brangsong-2015
 - c. SMA Negeri 2 Kendal-2018
 - d. UIN Walisongo Semarang-2022

C. Pengalaman Organisasi

1. Staf Dewan Ristek-Forum Saintis Muda Nasional (FOSMAN)-2019 sampai 2020

2. Staf Departemen Cadre and Education-UKM Riset dan Teknologi-2020 sampai 2021
3. Staf Dewan Hubungan dan Informasi- Forum Saintis Muda Nasional (FOSMAN)-2020 sampai 2021
4. Direktur-UKM Riset dan Teknologi-2021 sampai 2022

D. Prestasi

1. Juara Harapan 3 Lomba Esai Mahasiswa Tingkat Nasional oleh Hiamia FMIPA Unnes tahun 2020
2. Gold Medal POSI Bidang Biologi tahun 2021
3. Bronz medal kategori Environmental Science di International Invention Competition for Young Moslem Scientist (ICYMS) tahun 2021