

**IDENTIFIKASI DNA *BARCODING* BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lam.) ASAL PAPUA
SEBAGAI UPAYA KONSERVASI**

SKRIPSI

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



Oleh: **YUNITA WIDYA SRI UTAMI**
NIM: 2108016079

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2025**

**IDENTIFIKASI DNA *BARCODING* BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lam.) ASAL PAPUA
SEBAGAI UPAYA KONSERVASI**

SKRIPSI

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



Oleh: **YUNITA WIDYA SRI UTAMI**
NIM: 2108016079

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2025**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yunita Widya Sri Utami

NIM : 2108016079

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**IDENTIFIKASI DNA *BARCODING* BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lam.) ASAL PAPUA SEBAGAI
UPAYA KONSERVASI**

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



Semarang, 28 Maret 2025
Pembuat Pernyataan

Widya
Yunita Widya Sri Utami
NIM: 2108016079



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

PENGESAHAN

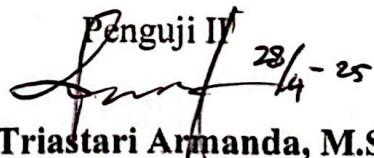
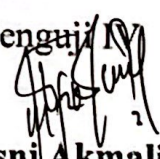
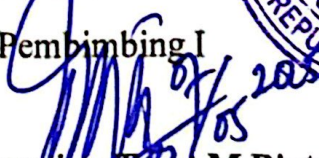
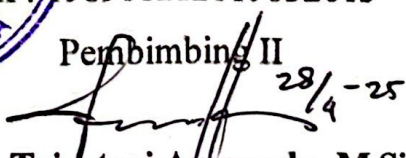
Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Identifikasi DNA *Barcoding* Buah Merah
(*Pandanus conoideus* Lam.) Asal Papua
Sebagai Upaya Konservasi
Nama : Yunita Widya Sri Utami
NIM : 2108016079
Jurusan : Biologi

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan diterima
sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam
bidang ilmu biologi.

Semarang, 28 April 2025

Dewan Penguji

Penguji I  Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. NIP. 198412182011012004	Penguji II  Dian Triastari Armanda, M.Si. NIP. 198312212011012004
Penguji III  Asri Febriana, M.Si. NIP. 198902012019032015	Penguji IV  Hafidha Asni Akmalia, M.Sc. NIP. 198908212019032013
Pembimbing I  Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. NIP. 198412182011012004	Pembimbing II  Dian Triastari Armanda, M.Si. NIP. 198312212011012004



NOTA PEMBIMBING

Semarang, 28/03/2025

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 : Identifikasi DNA *Barcoding* Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) Asal Papua Sebagai Upaya Konservasi

Penulis : Yunita Widya Sri Utami

NIM : 2108016079

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing,

Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech
NIP. 198412182011012004

NOTA PEMBIMBING

Semarang, 28/03/2025

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

Assalamu'alaikum. wr. wb.

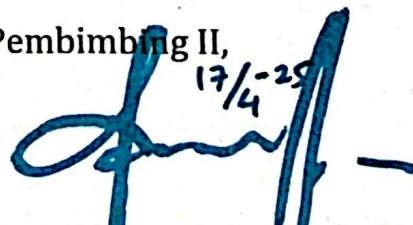
Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Identifikasi DNA *Barcoding* Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) Asal Papua Sebagai Upaya Konservasi
Penulis : Yunita Widya Sri Utami
NIM : 2108016079
Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing II,



Dian Triastari Armanda, M.Si
NIP. 198312212011012004

ABSTRAK

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) adalah salah satu tanaman endemik Papua dengan variasi kultivar yang tinggi. Teknologi DNA *barcoding* digunakan untuk menjaga keragaman genetik dalam upaya konservasi genetik. Gen *matK* dipilih sebagai *barcode* karena memiliki variasi yang tinggi dibandingkan dengan gen lain pada genom kloroplas tanaman, sehingga efektif untuk identifikasi dan verifikasi tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan karakteristik sekuens DNA dan analisis filogenetik berdasarkan gen penanda *matK* dari kultivar buah merah yang berasal dari Timika dan Nabire. Isolasi DNA pada sampel dilakukan dengan mengikuti prosedur teknik manual Wizard® Genomic DNA Purification Kit (PROMEGA). Proses PCR dilakukan sebanyak 35 siklus, dan hasilnya divisualisasikan melalui elektroforesis. Produk PCR kemudian disekuensing di First Base (1st Base) Malaysia. Analisis data dilakukan dengan menggunakan software Molecular Evolutionary Genetics Analysis 11 (MEGA 11). Proses *alignment* dilakukan menggunakan ClustalW dan data dianalisis lebih lanjut menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) yang tersedia di situs web National Center for Biotechnology Information (NCBI). Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) dan perhitungan jarak evolusi dihitung dengan menggunakan Tamura 3-parameter dengan *bootstrap replications* 1000. Kedua sampel kultivar (*P. conoideus* Lam.) asal Timika dan Nabire menunjukkan kemiripan yang tinggi 99%. Dapat disimpulkan bahwa keduanya merupakan spesies yang sama dan berkerabat dekat.

Kata kunci: DNA *Barcoding*, *Pandanus conoideus* Lam., molekuler.

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab Latin dalam skripsi ini berpedoman pada SKB Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158/1987 dan Nomor: 0543b/U/1987. Penyimpangan penulisan kata sandang (al-) disengaja secara konsisten supaya sesuai teks Arabnya.

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

Bacaan Madd :

a > = a panjang

i > = i panjang

u > = u panjang

Bacaan Diftong :

au = او

ai = اي

iy = اي

KATA PENGANTAR

Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis memanjatkan puji kepada Allah SWT, Sang Maha Pembuka dan Penolong, atas limpahan ilmu pengetahuan. penulis bersaksi bahwa tiada Tuhan selain Allah, dan Nabi Muhammad SAW adalah utusan-Nya. Shalawat dan salam semoga tercurah kepada beliau, keluarga, dan sahabatnya. Semoga kita termasuk umat yang mendapat syafa'atnya.

Skripsi ini akan menguraikan dan menjelaskan topik penelitian yang berjudul “Identifikasi DNA *Barcoding* Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) Asal Papua Sebagai Upaya Konservasi”. Penulis berharap paparan dalam skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
2. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
3. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang;

4. Ibu Galih Kholifatun Nisa', M.Sc. selaku Sekretaris Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang;
5. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech selaku dosen pembimbing I yang telah banyak membantu, meluangkan waktu dan tenaganya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian dan penulisan skripsi;
6. Ibu Dian Triastari Armanda, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah banyak membantu, meluangkan waktu dan tenaganya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian dan penulisan skripsi;
7. Bapak Eko Purnomo, M.Si selaku Dosen Wali yang selalu membimbing dan memberikan arahan sejak semester pertama hingga saat ini;
8. Bapak dan ibu dosen, pegawai, dan civitas akademik UIN Walisongo Semarang yang telah membantu penulis selama proses perkuliahan;
9. Orang tua saya, Bapak Sutarwi dan Ibu Sukartini, Shakila Anita Rifaya selaku saudara saya yang selalu memberikan kasih sayang, perhatian, doa, dan semangat kepada penulis, sehingga penulis mampu

- mengatasi dan menyelesaikan berbagai permasalahan selama masa perkuliahan dan penulisan skripsi;
10. Rekan-rekan Asisten Laboratorium Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo, khususnya Alfi Syaifuddin, Irda Ayu Febriani, dan Ahmad Juwarsyah, yang senantiasa memberikan semangat, wadah untuk berbagi pengetahuan, dan berdiskusi selama penelitian dan analisis data;
 11. Keluarga AYEE (Biologi 2021) Asa, Ahmad, Irfan, Eko, Agista, Athiva dan Lidya yang selama ini kebersamaan dalam berjuang mencari ilmu di UIN Walisongo;
 12. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2021 dan KKN Mandiri Misi Khusus Biologi yang kebersamaan dan menjadi tempat bertanya sekaligus bertukar ilmu.
 13. Terakhir, terima kasih kepada wanita sederhana yang memiliki impian besar, namun terkadang sulit dimengerti isi kepalanya, yaitu penulis diriku sendiri, Yunita. Terima kasih telah berusaha keras untuk menyakinkan dan menguatkan diri sendiri bahwa kamu dapat menyelesaikan studi ini sampai selesai. Berbahagialah selalu dengan dirimu sendiri, Yun. Rayakan kehadiranmu sebagai berkah dimanapun kamu menginjakkan kaki. Jangan sia-siakan usaha dan

doa yang selalu kamu langitkan. Allah sudah merencanakan dan memberikan porsi terbaik untuk perjalanan hidupmu. Semoga langkah kebaikan selalu menyertaimu, dan semoga Allah selalu meridhoi setiap langkahmu serta menjagamu dalam lindungan-Nya, Amin.

Sebagai ungkapan terima kasih yang tulus, penulis hanya dapat memanjatkan doa, semoga Allah SWT senantiasa meridhai dan memberikan kemudahan dalam setiap langkah, serta membalas segala kebaikan dengan pahala yang berlipat ganda.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, terutama dalam hal sistematika penulisan, pemilihan referensi, diksi, dan beberapa bagian penting lainnya. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca. Amin.

Semarang, 28 Maret 2025

Penulis



Yunita Widya Sri Utami

NIM: 2108016079

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
NOTA PEMBIMBING.....	iii
NOTA PEMBIMBING.....	iv
ABSTRAK	v
TRANSLITERASI ARAB-LATIN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	10
A. Kajian Pustaka.....	10
1. Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.).....	10
2. Konservasi Spesies.....	21
3. DNA <i>Barcoding</i>	22
4. Gen <i>Maturase K</i>	25
5. Sekuensing.....	27

6.	Isolasi DNA	29
7.	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	30
8.	Elektroforesis	33
B.	Kajian Penelitian yang Relevan	34
C.	Kerangka Berpikir	44
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		45
A.	Jenis Penelitian.....	45
B.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	45
A.	Sumber Data.....	46
B.	Metode dan Instrumen Pengumpulan Data	47
1.	Alat dan Bahan.....	47
2.	Instrumen Pengumpulan Data.....	49
3.	Tahapan Penelitian	50
4.	Analisis Data	56
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		58
A.	Deskripsi Hasil	58
1.	Identifikasi Karakter Morfologi <i>P. conoideus</i> Lam.	58
2.	Isolasi DNA Genom <i>P. conoideus</i> Lam.....	62
3.	Amplifikasi DNA Barcode <i>matK</i> Buah Merah....	63
4.	Elektroforegram sekuens Buah Merah	64
5.	Hasil BLASTn <i>P. conoideus</i> Lam.....	67
6.	Analisis sekuens <i>matK</i> dari <i>P. conoideus</i> Lam..	71

7. Analisis Filogenetik MultAlign <i>P. conoideus</i> Lam. Region <i>matK</i>	74
B. Pembahasan Hasil Penelitian.....	76
1. Karakter Morfologi <i>P. conoideus</i> Lam.....	76
2. Isolasi DNA Genom <i>P. conoideus</i> Lam.....	79
3. Amplifikasi DNA Barcode <i>matK</i> Buah Merah....	81
4. Elektroforegram sekuens Buah Merah	83
5. Hasil BLASTn Buah Merah (<i>P. conoideus</i> Lam.) 86	
6. Jarak Genetik	88
7. Analisis Filogenetik.....	89
C. Keterbatasan Penelitian.....	91
BAB V PENUTUP	93
A. Simpulan	93
B. Saran	94
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN.....	116

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1	Jenis tanah Provinsi Papua.....	6
Gambar 2. 1	Macam-macam kultivar Buah Merah	12
Gambar 2. 2	Bentuk umum <i>cepallum</i>	12
Gambar 2. 3	Diagram buah	13
Gambar 2. 4	Peta persebaran	20
Gambar 2. 5	Struktur gen dan posisi primer <i>matK</i>	26
Gambar 2. 6	Alur kerangka berpikir penelitian.....	44
Gambar 4.1	Bagian buah merah	61

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar.....	15
Tabel 2. 2 Penelitian terdahulu yang relevan	34
Tabel 3. 1 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik <i>Cepallum P. conoideus</i> Lam.	56
Tabel 3. 2 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik <i>Pedicell P. conoideus</i> Lam.....	57
Tabel 3. 3 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik <i>Drupe P. conoideus</i> Lam.....	57
Tabel 4.2 Daftar Sekuens Pembanding dari NCBI Berdasarkan Hasil BLASTn sampel PC1	68
Tabel 4.3 Daftar Sekuens Pembanding dari NCBI Berdasarkan Hasil BLASTn sampel PC2	69
Tabel 4.4 Komposisi Nukleotida.....	70

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Keanekaragaman hayati Indonesia, khususnya tumbuhan, memberikan manfaat yang signifikan bagi masyarakat (Sugiarti, 2023). Salah satu famili yang selalu bersinggungan dalam kehidupan sehari-hari dari tumbuhan HHBK (Hasil Hutan Bukan Kayu) adalah Famili Pandanaceae (Sisillia *et al.*, 2024). Penelitian Sisillia *et al.* (2024) menunjukkan adanya pemanfaatan famili Pandanaceae yang berbeda-beda antar wilayah di Indonesia. Masyarakat Indonesia bagian timur memanfaatkan Famili Pandanaceae, salah satu contohnya yaitu *Pandanus conoideus* Lam. atau yang dikenal dengan nama lokal buah merah, secara lebih luas daripada masyarakat di wilayah lain di Indonesia.

Buah merah dengan berbagai variasi kultivarnya memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan (Mozes *et al.*, 2018), obat-obatan (Malik and Lestari, 2015) dan produk untuk pemberdayaan masyarakat di wilayah Indonesia bagian timur (Soni *et al.*, 2023). Morfologi setiap kultivar buah merah berbeda antara satu dengan

yang lain. Perbedaan ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Buah merah membutuhkan lingkungan lembab pada fase vegetatifnya (Wawo *et al.*, 2019).

Morfologi buah merah mempunyai bentuk, ukuran dan warna buah yang bervariasi. Secara morfologi warna buah merah ini terdiri dari dua kelompok yakni merah dan kuning (Zebua *et al.*, 2019). Terdapat empat kultivar buah merah yang populer di wilayah Pegunungan Tengah Papua yaitu Maler, Bergum, Wona dan Wesi. Masyarakat setempat percaya jika buah merah tumbuh di daerah yang berbeda, maka nama kultivarnya juga berbeda. Oleh karena itu, identifikasi morfologi perlu dilakukan untuk memetakan keberagaman buah merah secara akurat (Wawo *et al.*, 2019).

Pendataan dan identifikasi yang akurat ini sangat penting dalam upaya konservasi genetik yang mencakup tahapan taksonomi, morfologi dan DNA *barcoding* (Halmschlag *et al.*, 2022). Frankham *et al.* (2002) konservasi genetika merupakan salah satu dari aplikasi ilmu genetika yang bertujuan

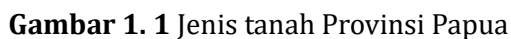
mempertahankan spesies sebagai entitas dinamis yang memiliki kemampuan untuk mengatasi perubahan lingkungan, dengan ruang lingkupnya mencakup manajemen genetika populasi berukuran kecil, pemecahan masalah ketidakpastian taksonomi, penentuan unit manajemen intraspesifik, dan penggunaan analisis genetik dalam kegiatan forensik maupun dalam kajian biologi spesifik.

Analisis genetik yang digunakan dalam konservasi genetik pada penelitian ini adalah DNA *barcoding*. Dalam hal ini, penggunaan *DNA barcoding* menjadi semakin penting sebagai teknik yang efektif dalam konservasi genetik, melengkapi tahapan taksonomi dan morfologi (Jannah, 2019). Identifikasi spesies dilakukan sebagai langkah awal untuk memastikan taksonomi suatu spesies dengan mengamati ciri karakteristik tumbuhan seperti batang, daun, bunga dan buah (Febriyanti, 2023).

Data morfologi dan DNA *barcoding* saling mendukung dalam identifikasi spesies. Pendekatan morfologi memberikan informasi visual dan karakter fisik, namun seringkali terbatas jika spesies memiliki

kemiripan morfologi atau variasi morfologi yang tinggi (Saleky dan Merly, 2021). Sementara itu, DNA *barcoding* menggunakan sekuens DNA pendek dari gen tertentu yang mampu mengidentifikasi spesies secara cepat dan akurat, bahkan pada spesies yang sulit dibedakan secara morfologi.

DNA *barcoding* memerlukan satu atau beberapa gen penanda yang tepat (Martiansyah, 2021). Terdapat dua gen penanda yang direkomendasikan oleh *The Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) untuk identifikasi tanaman yaitu gen *ribulosa-1,5- bifosfat karboksilase* (*rbcl*) dan gen *maturase-K* (*matK*). Gen *matK* merupakan gen dengan variasi yang tinggi dibandingkan dengan gen lain pada genom kloroplas tanaman, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi dan verifikasi tanaman (Zoschke *et al.*, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Zebua *et al.* (2019) menunjukkan bahwa enam kultivar sampel dari Wamena yang diidentifikasi dengan menggunakan gen *matK* memiliki kemiripan 99% dengan *Pandanus conoideus* Lam., yang berarti bahwa gen *matK* dapat digunakan untuk menentukan tingkat spesies pada Pandan.



Nabire terletak dikawasan Teluk Cendrawasih yang berpengaruh terhadap iklim dan kondisi alam. (Maruanaya *et al.*, 2023), tanah jenis Podsolik Coklat Kelabu mendominasi kabupaten Nabire. Tanah Podsolik coklat kelabu merupakan tanah yang bersifat asam serta rendah unsur hara, oleh karena itu, tanah ini tidak cocok untuk budidaya tanaman semusim (Suharta dan Yatno, 2009). Sedangkan Timika memiliki karakteristik pulau yang terbentuk karena endapan pasir, lumpur dan bercampur tanah alluvial (Kalor *et al.*, 2018).

Hal ini sesuai dengan jenis tanah yang dapat diakses melalui laman (papua.go.id) bahwa kabupaten Timika didominasi oleh tanah Organosol Aluvial yang dapat dilihat pada Gambar 1.1. Tanah organosol memiliki kandungan organik yang tinggi, namun tanah ini cenderung bersifat asam (Wowor, 2013). Pada buah merah asal Timika dan Nabire belum ada penelitian yang menggunakan pendekatan morfologi dan DNA *barcoding* dengan penanda gen *matK*. Hal tersebut berarti hubungan filogenetik buah merah tersebut dengan kerabat dekatnya yang terdaftar dalam sistem NCBI belum pernah diidentifikasi.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang terdapat pada latar belakang, rumusan masalah yang muncul dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana perbandingan karakteristik sekuens DNA berdasarkan gen penanda *matK* dari kultivar buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) asal Timika dan Nabire?
2. Bagaimana analisis filogenetik dari kultivar buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) asal Timika dan Nabire?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dalam penelitian ini, tujuan penelitian ini yaitu:

1. Membandingkan karakteristik sekuens DNA berdasarkan gen penanda *matK* dari kultivar buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) asal Timika dan Nabire.
2. Menganalisis filogenetik dari kultivar buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) asal Timika dan Nabire.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain;

1. Manfaat teoritis

- a. Menambah referensi dan pemahaman mengenai buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) ditinjau dari sekuens *matK* dan ciri morfologi.
- b. Menambah data molekuler di NCBI.
- c. Sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat praktis

a. Bagi Peneliti

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan di bidang molekuler dan meningkatkan keterampilan di laboratorium.

b. Bagi Instansi

Penelitian ini dapat mendukung misi program studi Biologi untuk menyelenggarakan riset dalam bidang biologi yang selaras dengan kesatuan ilmu pengetahuan dan berwawasan kearifan lokal.

c. Bagi Masyarakat

Sebagai acuan untuk memantau keanekaragaman hayati dalam upaya

perencanaan kawasan konservasi bagi buah merah di wilayah Indonesia.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

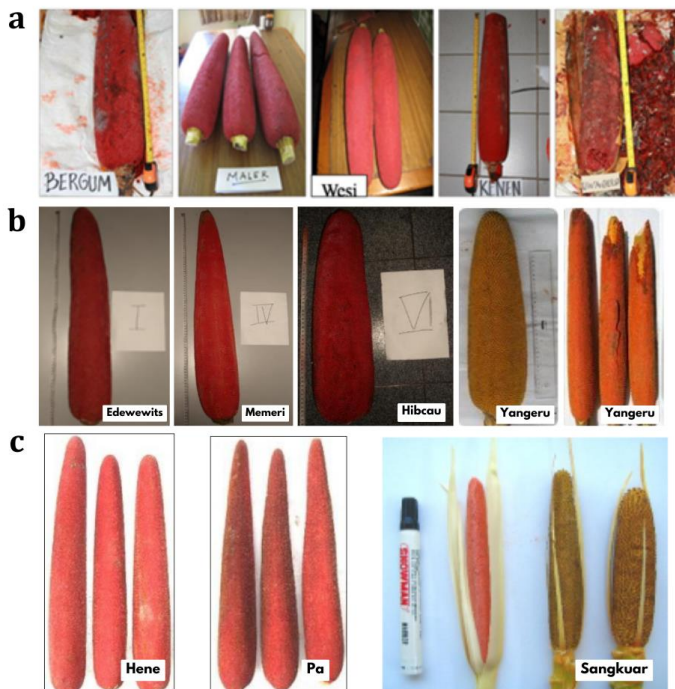
A. Kajian Pustaka

1. Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.)

Buah merah (*P. conoideus* Lam.) adalah salah satu tanaman endemik Papua. Tanaman ini termasuk dalam kelompok pandan-pandangan, namun karena sebagian besar buahnya berwarna merah, masyarakat Indonesia menjulukinya sebagai buah merah. Zebua dan Walujo (2016) mengklasifikan buah merah berdasarkan ciri morfologi buah dan bijinya. Ukuran dan warna buah bervariasi, ada yang berwarna merah dan kuning.

Beberapa kultivar yang ditampilkan dalam Gambar 2.1 dari penelitian Wawo *et al.* (2019) memperlihatkan bahwa ukuran buah bervariasi antar kultivar. Kultivar *Bergum*, *Maler*, *Wona*, dan *Wesi* memiliki ukuran buah besar, sementara *Uaghelu* berukuran kecil, kelima kultivar ini dapat tumbuh di daerah Jayawijaya. Penelitian Aman *et al.* (2019) menunjukkan bahwa kultivar *Edewewits*, *Memeri*, dan *Hibcau* memiliki bentuk penampang *cepalum* silinder meruncing. Panjang rata-rata buah *Edewewits* dan *Memeri* berkisar antara 71-84 cm dengan berat 4-5,5 kg, sedangkan *Hibcau* memiliki

panjang 47 cm dengan berat 4,2 kg. Ketiga kultivar ini dapat tumbuh di daerah Manokwari, Universitas Papua. Selain itu, Zebua *et al.* (2016) melaporkan kultivar *Sungkuar* di daerah pegunungan Arfak-Manokwari. Kultivar lain yang juga disebutkan adalah *Yangeru* (kuning) dan *Yangeru* (merah) dari daerah pegunungan Cyclops-Jayapura, serta kultivar *Hene* dan *Pa* dari kabupaten Jayawijaya.

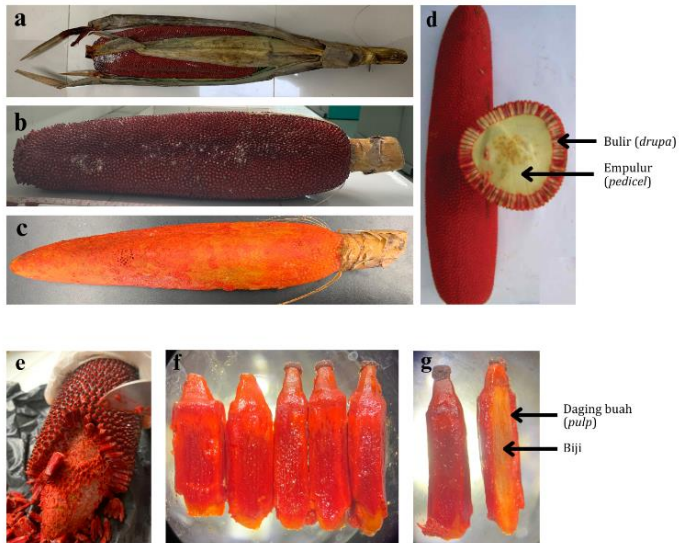


Gambar 2. 1 Macam-macam kultivar Buah Merah
(Baris atas (a) dari penelitian Wawo *et al.*, 2019; Baris kedua (b) dari penelitian Aman *et al.*, 2019; Baris ketiga (c) dari penelitian Zebua *et al.*, 2016)

Penelitian eksplorasi yang dilakukan oleh Zebua *et al.* (2016) mengungkapkan bahwa masyarakat Papua memiliki sistem klasifikasi tradisional untuk membedakan varietas buah merah. Sistem klasifikasi ini didasarkan pada karakteristik fisik buah, meliputi ukuran buah, ukuran biji, warna buah, dan kualitas minyak yang dihasilkan. Contoh beberapa bentuk umum *cepallum* dari kultivar buah merah tersaji dalam Gambar 2.2. Menurut ilmu botani, istilah "*cepallum*" merujuk pada buah, sedangkan istilah "*drupe*" merujuk pada biji, seperti yang terlihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 2 Bentuk umum *cepallum* dari beberapa kultivar buah merah (Sumber: Sarungallo *et al.*, 2019)



Gambar 2. 3 Diagram buah (a) Buah merah dengan braktea (b) Buah merah utuh (*cepallum*) (c) Empulur (*pedicel*) (d) Penampang melintang buah utuh dari buah merah (e) Pemisahan biji dari empulur (f) *Drupe* dengan sinkarp (g) Bulir (*drupe*) buah merah (Sumber: Dokumentasi penelitian)

Klasifikasi dari buah merah (*P. conoideus* Lam.) menurut ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Filum	: Tracheophyta
Kelas	: Liliopsida

Ordo	: Pandales
Famili	: Pandanaceae
Genus	: Pandanus Parkinson
Spesies	: <i>Pandanus conoideus</i> Lam.

Allah SWT juga menjelaskan bahwa tumbuhan memiliki karakteristik morfologi yang dapat diamati dalam surah Al-An'am ayat 99

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ لَنْ نَنْظُرَهُ إِلَّا نَجْمًا غَابِرًا ۚ وَتَنْجِعُهُمْ إِنِّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: "Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu

benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman.”

Penentuan kultivar berdasarkan karakter morfologi organ buah merah dilakukan dengan meninjau beberapa artikel yang ditulis oleh Santoso *et al*, (2011); Wawo *et al*, (2019); (Sarungallo *et al*, 2019); dan Aman *et al*. (2019). Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar

No	Gambar	Kultivar	Karakterisasi	Referensi
1.		Monsor	Warna buah merah tua mengkilap dan bulir buah telah bernas (berisi penuh) dan lebih lunak, buah mengeluarkan minyak, bulir buah mudah dilepas dari empulurnya dan daun seludung terbuka serta mengering	Santoso <i>et al</i> , (2011)
2.		Maler	Panjang buah 85,33 cm, diameter buah 13 cm, berat kotor buah 9,65 kg, dan berat bersih buah 5,3 kg	Wawo <i>et al</i> , (2019)
3.		Bergum	Panjang buah 83 cm, diameter buah 13,7 cm, berat kotor buah 8,63 kg, dan berat bersih buah 4,75 kg	Wawo <i>et al</i> , (2019)
4.		Edewewits	Silinder meruncing memanjang dari pangkal dan tengah kemudian mengecil sampai ujung, panjang buah 71-80 cm dan berat 4,6-6,4 kg	(Sarungallo <i>et al</i> , 2019)

Tabel 2. 1 Lanjutan, Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar

No	Gambar	Kultivar	Karakterisasi	Referensi
5.		Hibcau	Buah membulat besar bagian pangkal dan membesar pada bagian tengah kemudian mengecil sampai ujung, panjang buah 43-74 cm dan berat 3,8-8,5 kg	Sarungallo <i>et al.</i> (2019)
6.		Mbarugum	Buah membulat besar dari bagian pangkal kemudian mengecil sampai ke bagian tengah dan ujung, panjang buah 58-62 cm dengan berat 6,5-9,3 kg	Sarungallo <i>et al.</i> (2019)
7.		Wesi	Buah berukuran besar, dengan berat bersih 3,05 kg dan berat kotor 5,45 kg, panjang buah 67 cm, dan diameter buah 11,5 cm	Wawo <i>et al.</i> (2019)
8.		Edewewits	Buah berukuran 4-4,7 kg, memiliki panjang 71-74 cm dengan volume buah 0,0048-0,0051 m ³ dan massa jenis buah 838,36-860,00 kg/m ³	Aman <i>et al.</i> (2019)

Tabel 2. 1 Lanjutan, Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar

No.	Gambar	Kultivar	Karakterisasi	Referensi
9.		Uaghelu	Buah berukuran kecil dengan berat kotor 3,5 kg da berat bersih 2,7 kg, panjang buah 54 cm dan diameter buah 10,7 cm	Wawo <i>et al.</i> (2019)
10.		Memeri	Buah berukuran 5,3-5,5 kg, memiliki panjang 80-84 cm dengan volume buah 0,0063-0.0069 m ³ dan massa jenis buah 796,62-835,92 kg/m ³	Aman <i>et al.</i> (2019)
11.		Hibcau	Buah berukuran 4,2 kg, memiliki panjang 47 cm dengan volume buah 0,0050 m ³ dan massa jenis buah 839,62 kg/m ³	Aman <i>et al.</i> (2019)

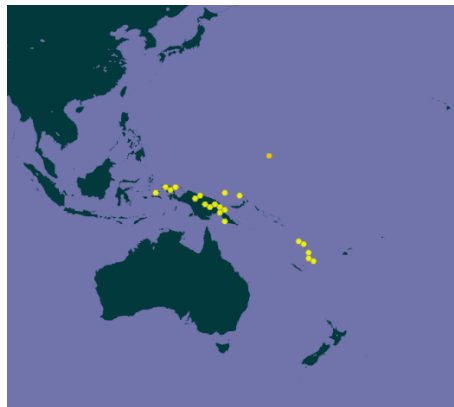
Tabel 2. 1 Lanjutan, Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar

No.	Gambar	Kultivar	Karakterisasi	Referensi
12.		Yangeru (kuning)	Buah kuning, memiliki ukuran panjang 40 cm, bentuk buah membulat, silindris dan ujung buah tumpul	Zebua dan Walujo (2016)
13.		Yangeru (merah)	Buah berukuran 5,3-5,5 kg, memiliki panjang 80-84 cm dengan volume buah 0,0063-0.0069 m ³ dan massa jenis buah 796,62-835,92 kg/m ³	Aman <i>et al.</i> (2019)
14.		Kenen	Buah berukuran kecil dengan rentang 3,7 kg dengan panjang 58 cm	Wawo <i>et al.</i> (2019)

Tabel 2.1 Lanjutan, Deskripsi karakter morfologi buah merah dari masing-masing kultivar

No.	Gambar	Kultivar	Karakterisasi	Referensi
15.		Monsrus	Buah berbentuk silinder yang membulat kecil pada bagian pangkal kemudian membesar pada bagian tengah dan mengecil dibagian ujung, dengan panjang 42-52 cm, 1,3-2,8 kg	Wawo <i>et al.</i> (2019)
16.		Menjib Rumbai	Buah berwarna kuning berbentuk silinder meruncing yang membulat kecil pada bagian pangkal kemudian membesar pada bagian tengah dan mengecil pada bagian ujung, memiliki panjang 42-47 cm dengan berat 1,7-2,2 kg	Wawo <i>et al.</i> (2019)

Persebaran tanaman buah merah merata di seluruh Papua seperti terlihat pada Gambar 2.4 mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi seperti Jayapura, pegunungan Jayawijaya, Yahukimo, Mimika, Merauke, daerah kepala burung meliputi Sorong, Manokwari dan Nabire, serta kepulauan Biak dan Serui (Maran *et al*, 2022). Wawo *et al* (2019) menemukan dari hasil eksplorasinya bahwa buah merah di Pegunungan Tengah Papua tumbuh di lingkungan yang lembab, tekstur tanah berliat namun bercampur dengan pasir.



Gambar 2. 4 Peta persebaran *Pandanus conoideus* Lam. di Indonesia dan Papua New Guinea (GBIF, 2024)

2. Konservasi Genetik

Konservasi genetik didefinisikan sebagai aktivitas menjaga keberagaman genetik dalam suatu populasi dan antarspesies. Dua alasan mendasari pentingnya tindakan ini. Pertama, dinamika perubahan lingkungan yang berkelanjutan memerlukan adanya keragaman genetik sebagai modal adaptasi, evolusi, dan penyesuaian diri bagi makhluk hidup. Kedua, erosi keragaman genetik dapat memicu potensi perkawinan sedarah dan penurunan kebugaran reproduktif (Frankham et al., 2002). Berdasarkan urgensi ini, IUCN merekomendasikan pelestarian keragaman genetik sebagai salah satu dari tiga prioritas konservasi global yang setara dengan pelestarian keanekaragaman spesies dan pengurangan laju kepunahan.

Hal mendasar dalam konservasi genetik adalah kejelasan taksonomi yang dapat diperoleh melalui analisis morfologi maupun molekuler. Kepastian ini penting untuk berbagai keperluan, termasuk perlindungan hukum spesies terancam punah, pemetaan distribusinya, penentuan status

endemik atau invasif, serta identifikasi spesies bernilai ekonomi (Utami & Budiantoro, 2022). Dalam konteks ini, buah merah, yang merupakan spesies endemik Papua (Maran *et al.*, 2022), menjadi salah satu contoh yang relevan. Meskipun memiliki nilai penting, pengetahuan masyarakat Indonesia tentang buah merah masih terbatas, dan pemanfaatannya belum meluas di luar komunitas lokal.

Dalam konservasi genetik, upaya pengelolaan konservasi spesies dengan menggunakan pendekatan molekuler memegang peranan yang sangat penting, seperti yang dijelaskan oleh Frankham *et al.* (2002). Pada bidang molekuler, penggunaan *DNA barcoding* menjadi semakin penting (Jannah, 2019). Dalam penelitian ini, marka DNA dianalisis menggunakan teknik *DNA barcoding*, dengan fokus pada gen *matK* yang berasal dari buah merah.

3. DNA Barcoding

DNA Barcoding diusulkan pertama kali oleh Hebert *et al* (2003), yang menyebutkan bahwa semua spesies organisme dapat diidentifikasi

dengan menggunakan sekuens pendek dari gen yang posisinya ada di dalam genom terstandarisasi. Pemanfaatan informasi genetik dari rangkaian sekuens pendek DNA di wilayah gen harus memenuhi tiga kriteria sebagai berikut: 1) memiliki variabilitas dan divergensi genetik pada tingkat spesies, 2) berisi daerah yang *conserved* untuk membuat primer PCR, 3) memiliki panjang urutan yang relatif pendek untuk memudahkan ekstraksi dan amplifikasi DNA (Rencellie *et al*, 2023).

DNA *barcoding* merupakan alat taksonomi yang digunakan untuk mengidentifikasi spesies dengan memanfaatkan satu atau lebih sekuens DNA pendek yang terstandarisasi untuk tujuan identifikasi takson (Antil *et al*, 2023). Selain itu, data sekuens DNA mempunyai bentuk digital sehingga memungkinkan semua orang dapat mengaksesnya (Seprianto, 2017). Prinsip dasar DNA *barcode* meliputi 2 tahapan utama, yaitu mengisolasi dan memperbanyak target gen dengan menggunakan teknik PCR.

Proses PCR memerlukan pasangan primer yang spesifik untuk menargetkan gen yang diamati

(Sunaryo, 2015). *Consortium for Barcode of Life* (CBOL) mengusulkan berbagai gen penanda molekuler seperti COI untuk hewan, *ribulosa bifosfat karboksilase* (*rbcL*), *maturase K* (*matK*) dan ITS untuk tumbuhan, dan gen 16S rRNA untuk bakteri (Antil *et al*, 2023). Hewan memiliki penanda genetik universal yaitu COI. Sebaliknya, tumbuhan belum menemukan penanda molekuler yang dapat digunakan secara umum untuk identifikasi spesies (Hollingsworth *et al*, 2011).

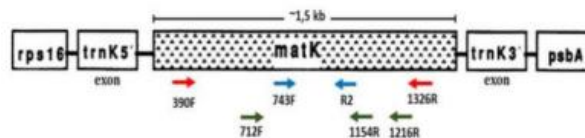
Upaya untuk menemukan penanda genetik yang berlaku umum pada semua jenis tumbuhan masih terus dilakukan. Studi terbaru menunjukkan bahwa gen ITS memiliki potensi besar untuk menjadi penanda genetik universal pada tanaman, meskipun penelitian lebih lanjut masih diperlukan (Cheng *et al*, 2016). Selain itu, ada berbagai prospek untuk DNA *barcode*. Menurut *Barcode of Life Data System* (CboL) pada tahun 2009 gen kloroplas pada tanaman yaitu *maturase K* (*matK*) dan *ribulosa bifosfat karboksilase* (*rbcL*) diusulkan sebagai DNA *barcode*. Namun terdapat *barcode*

tambahan yang dapat digunakan yaitu urutan sekuens *trnH-psbA* dan ITS (Hebert *et al*, 2004).

Gen penanda yang digunakan pada penelitian ini yaitu gen *matK*. Gen ini dipilih karena dapat membedakan tanaman sampai tingkat spesies. Selain itu, gen *matK* memiliki kecepatan evolusi yang tinggi dan urutan sekuens yang bervariasi (Barthet 2006). Oleh karena itu, gen *matK* dinilai lebih baik dan lebih akurat dalam mengidentifikasi dan membedakan suatu spesies (Kolondam *et al*. 2012).

4. Gen *Maturase K*

Maturase K adalah gen yang terdapat didalam kloroplas yang mengkode protein *maturase* sebagai katalis dalam proses penyambungan intron mRNA. Secara struktural, gen *matK* terletak di antara dua exon gen *trnK*. (Su'udi *et al*, 2023). Panjang keseluruhan gen *matK* sekitar 1500 bp terlihat pada Gambar 2.5



Gambar 2. 5 Struktur gen dan posisi primer *matK*
(Hilu and Liang, 1997)

Gen *matK* merupakan wilayah pengkodean kloroplas secara konsisten berkembang pesat dan konsisten menunjukkan tingkat deskriminasi yang tinggi terutama pada Angiospermae (Mursyidin dan Irfan, 2020). Penelitian terkait proses identifikasi tanaman buah merah dari gen *matK* dilakukan oleh Zebua *et al* (2019) yang bertujuan untuk analisis kekerabatan kultivar buah merah dari Wamena dengan kerabat dekatnya yang terdaftar di NCBI. Proses identifikasi analisis kekerabatan menggunakan gen *matK* menunjukkan kemiripan yang tinggi yaitu 99% dengan *Pandanus conoideus* Lam. dengan panjang urutan nukleotida 1474 bp.

Gen *matK* dianggap sebagai salah satu lokus informatif yang digunakan dalam menentukan hubungan filogenetik tanaman (Hilu *et al.*, 2003). Hal ini dikarenakan gen *matK* memiliki sifat universal yang berarti gen *matK* dapat ditemukan pada tumbuhan. Selain itu, sifat ini didukung oleh perubahan pasangan basa DNA yang tinggi pada

wilayah gen tersebut. Adanya tingkat substitusi yang tinggi ini menghasilkan variasi urutan DNA yang cukup besar antar spesies. Variasi urutan DNA pada gen *matK* inilah yang kemudian dimanfaatkan sebagai daerah *barcode* (Hollingsworth *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011).

5. Sekuensing

Sekuensing DNA atau penentuan urutan basa nukleotida dalam suatu fragmen DNA, menghasilkan sekuens DNA. Informasi mendasar ini krusial bagi pemahaman gen atau genom karena memuat instruksi penting untuk perkembangan organisme (Glick dan Patten, 2022). Proses pengurutan asam nukleat ini memungkinkan identifikasi kode genetik dalam molekul DNA. Lebih lanjut, hasil sekuensing DNA dapat digunakan untuk menentukan identitas maupun fungsi gen atau fragmen DNA melalui perbandingan dengan sekuens DNA yang telah diketahui (Rogers, 2011).

Sejak penemuan struktur 3D DNA oleh Watson and Crick pada tahun 1953 (Watson dan Crick 1953; Zallen 2003), telah banyak teknik sekuensing yang sudah dikembangkan. Dalam

penelitian Mohammad and Omid (2022), sekuensing asam nukleat dikategorikan menjadi tiga generasi. Generasi pertama penelitian ini fokus pada pengurutan spesies RNA murni, seperti tRNA. Proses ini memakan waktu selama 3 tahun dan melibatkan 5 orang, dengan menggunakan 1 gram bahan murni yang diambil dari 140 gram ragi untuk menentukan 76 nukleotida (Holley *et al*, 1965).

Pada waktu yang sama, Fred Sanger mengembangkan metode *sekuens dideoxy* berdasarkan untai DNA oleh enzim DNA polimerase. Metode ini kemudian dikembangkan lagi oleh Maxam dan Gilbert dengan melakukan pendegradasian fragmen DNA secara kimia (Pierce, 2016). Alhasil, model Sanger adalah model sekuensing yang banyak digunakan karena dapat mengurutkan sekuens DNA dengan cepat dan mudah dalam penggunaannya (Alex *et al*, 2020).

Metode Sanger bekerja dengan cara menghentikan sintesis rantai DNA secara terencana. Proses penghentian ini dicapai melalui penambahan *dideoxynucleotides triphosphates* (ddNTPs) seperti A, T, G, dan C, yang menyebabkan

pemutusan untai DNA pada berbagai posisi. Dengan demikian, urutan basa DNA dapat diidentifikasi. Fragmen amplikon dengan panjang yang berbeda dipisahkan pada gel yang berbeda untuk sekuensing. Sequencer berbasis Sanger menghasilkan panjang fragmen DNA sebesar 800-1000 bp setiap proses sekuensing (Gupta and Gupta, 2014).

6. Isolasi DNA

Isolasi DNA adalah teknik untuk mengisolasi DNA dari komponen sel lainnya seperti selulosa, protein dan RNA melalui lisis sel, pemurnian dan presipitasi. Proses ini bertujuan memperoleh DNA murni untuk berbagai aplikasi molekuler seperti analisis genomik (Shyamkumar *et al*, 2023). Proses pemerolehan DNA secara murni melibatkan penghancuran atau lisis membran sel, pemisahan DNA dari protein sel dan pemurnian DNA. Tahap pemurnian DNA merupakan hal terpenting dalam isolasi DNA karena tahap ini dapat mengurangi jumlah kontaminan pada isolat DNA seminimal mungkin sehingga dapat

menentukan kemurnian dan konsentrasi isolat DNA yang diperoleh (Sutanta *et al.*, 2021).

DNA dapat diekstraksi dengan berbagai cara, termasuk menggunakan buffer CTAB atau Kit ekstraksi. Konsep ekstraksi DNA menggunakan CTAB dan kit ekstraksi secara spesifik hampir serupa, tetapi prosedur pengolahannya sedikit berbeda (Tauhida *et al.*, 2022). Buffer CTAB secara universal digunakan untuk mengekstraksi DNA dari bahan-bahan tertentu termasuk tanaman, hewan dan bakteri (Aboul *et al.*, 2019). Secara umum, kit ekstraksi hanya digunakan untuk jenis sampel tertentu seperti DNAeasy Plant Mini Kit untuk isolasi DNA tanaman (Abdel *et al.*, 2017).

7. *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction atau reaksi berantai polimerase (PCR) merupakan teknik amplifikasi gen *in vitro* yang memanfaatkan enzim DNA *polymerase* I atau isolat dari *Thermus Aquaticus* yang dikenal sebagai *Taq Polymerase*. PCR berfungsi untuk mensintesis berulang kali sekuens DNA spesifik pada kondisi termal siklik (Lorenz, 2022). Metode PCR pertama kali

diperkenalkan oleh Karry Mullis dari *Cetus Corporation* (Williams et al., 1988) dengan komponen yang diperlukan oleh reaksi PCR sebagai berikut 1.) DNA *template*, yaitu fragmen DNA sebagai cetakan, 2.) nukleotida (dNTPS) sebagai bahan penyusun DNA baru, 3) Primer, sebagai penanda awal replikasi 4) Enzim DNA *Polymerase*, sebagai katalis reaksi serta, 5) Buffer reaksi sebagai larutan penyangga untuk menjaga kondisi reaksi tetap optimal (Triwibowo, 2006).

PCR terdiri dari lima tahapan yakni Pra-Denaturasi, Denaturasi, *Annealing*, *Extension* dan *Pos-Extension*. Penjelasan dari masing-masing tahap adalah sebagai berikut:

- 1) Tahap Pra-Denaturasi memastikan DNA *template* berada dalam keadaan tunggal sebelum siklus PCR dimulai. Suhu yang digunakan pada tahap ini umumnya sedikit lebih rendah dibandingkan dengan tahap denaturasi utama, dengan durasi 2-5 menit ini untuk meminimalkan pembentukan struktur sekunder pada DNA dan memastikan semua komponen DNA siap diamplifikasi (Arifa et al., 2022).

- 2) Tahap Denaturasi dalam PCR bertujuan untuk memisahkan ikatan hidrogen antara pasangan basa komplementer dari DNA untai ganda menjadi untai tunggal pada suhu optimal sekitar 95°C selama 30 detik. Suhu denaturasi yang tidak optimal dapat menyebabkan kegagalan dalam amplifikasi DNA. Suhu yang terlalu rendah akan menghambat perlekatan primer, sedangkan suhu yang terlalu tinggi akan menginaktivasi enzim DNA *polymerase* seperti *Taq Polymerase* (Arifa *et al.*, 2022).
- 3) Tahap *Annealing* melibatkan pendinginan DNA yang terdenaturasi pada suhu berkisar antara 55-72 °C. *Annealing* memungkinkan primer berikatan dengan DNA untai tunggal pada lokasi komplementernya masing-masing dimulai dari ujung 3' DNA template (Ghannam, 2023). Pengikatan primer ke situs komplementernya pada DNA beruntai tunggal menghasilkan dua molekul beruntai ganda. Untuk memulai fungsi DNA *polymerase*, DNA untai ganda diperlukan untuk terjadinya replikasi dan setelah itu DNA *polymerase* mensintesis DNA dalam arah 3'

hingga 5' menghasilkan untai yang identik dengan untai cetakan (Green *et al*, 2019).

4) Tahap *Extension*

Pada tahap *extension*, enzim DNA polymerase akan menambahkan nukleotida secara berurutan pada ujung 3' primer, sehingga membentuk untai DNA baru yang komplementer dengan template DNA. Proses ini berlangsung optimal pada suhu 72 °C selama 60-120 detik (Deekshit *et al.*, 2013).

5) Tahap *Post-Extension*

Tahap pemanjangan primer selama tahap *extension* PCR (Deekshit *et al.*, 2013).

8. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul berdasarkan ukuran dan muatan listriknya. Teknik ini sering digunakan untuk memisahkan fragmen DNA. Prinsip kerjanya adalah dengan menempatkan sampel DNA pada gel agarose, suatu matriks berpori. Ketika arus listrik dialirkan, molekul DNA yang bermuatan negatif akan bergerak menuju kutub positif. Fragmen DNA yang lebih kecil akan lebih mudah melewati pori-

pori gel sehingga bergerak lebih cepat dibandingkan fragmen DNA yang lebih besar (Gumandi and Kandula, 2020).

Setelah proses migrasi selesai, fragmen DNA akan dipisahkan berdasarkan ukurannya membentuk pita-pita yang berbeda. Untuk memvisualisasikan pita-pita DNA tersebut digunakan pewarna fluoresen seperti *etidium bromide* yang dapat berinteraksi dengan basa nitrogen pada DNA. Saat diiluminasi dengan sinar ultraviolet, DNA yang terwarnai akan memancarkan cahaya sehingga pita-pita DNA menjadi terlihat jelas (Gumandi and Kandula, 2020).

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Tabel 2. 2 Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
1.	The DNA barcode of red fruit pandan (Pandanaceae) cultivar from Wamena, Papua Province, Indonesia based on <i>matK</i> gene (Zebua <i>et al</i> , 2019)	Ekstraksi DNA dilakukan dengan DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), amplifikasi gen <i>matK</i> menggunakan PCR, visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis, sekuensing dilakukan di PT Bioneer Indonesia, analisis data memakai BioEdit versi 7.0 dan BLAST (NCBI), serta pembuatan pohon filogenetik menggunakan software khusus.	Barcode DNA buah merah berdasarkan gen <i>matK</i> sepanjang 1474 bp mengidentifikasi enam kultivar asal Wamena hingga tingkat spesies, yang dikelompokkan sebagai satu jenis, <i>Pandanus conoideus</i> .	Penelitian dari Zebua <i>et al</i> (2019) menggunakan buah merah dari Wamena, sedangkan penelitian ini menggunakan buah merah dari Nabire dan Timika.

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
		Clustal X versi 1.62b dengan algoritma metode Neighbour-joining dengan 1000x replikasi.		
2.	Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk) Bioresources Pegunungan Tengah Papua: Keanekaragaman dan Upaya Konservasinya (Wawo <i>et al</i> , 2019)	Metode eksplorasi yang digunakan adalah wawancara penduduk lokal, pengamatan morfologi tanaman, tanah, iklim mikro, spesies sekitar, serta pengumpulan material perbanyakkan.	Terdapat 23 kultivar buah merah di wilayah Pegunungan Tengah Papua. Perkembangan buah dari muda hingga matang berlangsung selama 3-4 bulan dan terbagi menjadi 3 tahap. Upaya konservasi telah dilakukan secara ex-situ di Kebun Raya	Metode penelitian yang dilakukan Wawo <i>et al</i> , (2019) upaya konservasi dengan eksplorasi serta identifikasi morfologi. Sedangkan dalam penelitian ini menggunakan identifikasi morfologi dan molekuler

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
			Biologi Beberapa seperti Bergum, Maler, Wona dan Wesi telah dibudidayakan.	
3.	Morfologi dan karakteristik tempat tumbuh tanaman buah merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk) di Kampung Eroma Distrik Kurima Kabupaten	Metode yang digunakan meliputi purposive sampling plot, wawancara dengan responden masyarakat setempat, observasi lapangan, dan penelitian dilakukan di Desa Eroma, Distrik Kurima, Kabupaten Yahukimo, Provinsi Papua	Pengamatan morfologi dilakukan pada karakter daun, batang, akar, dan duri dari dua kultivar buah merah, yaitu pendek dan panjang.	Penelitian yang dilakukan Maran <i>et al</i> , (2022) mengamati moroflogi buah merah dari karakter daun, batang, akar dan duri.

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
	Yahukimo (Maran <i>et al</i> , 2022)		tempat tumbuh buah merah secara liar dan dkebun masyarakat tidak berbeda secara signifikan.	Sedangkan penelitian ini melakukan pengamatan menggunakan organ buah saja.
4.	DNA Barcoding of Six Ethnomedicinal and Economically Important <i>Pandanus Parkinson</i> (Pandanaceae) in the Philippines (Joy <i>et al</i> , 2021).	Metode ekstraksi DNA dengan silika, identifikasi morfologi di Biodiversity Heritage Library, Genom DNA di ekstraksi dengan protokol Dneasy Plant Minikit Qiangen, Jerman). Amplifikasi gen penanda <i>matK</i> , <i>rbcl</i> dan <i>trnH</i> -dengan KapaTaq PCR Kit. Analisis sekuens dengan SeaView Sequence	Analisis filogenetik menggunakan pendekatan NJ menunjukkan bahwa <i>trnH-psbA</i> memiliki kemampuan yang lebih baik untuk menyelesaikan identitas spesies dan garis keturunan eksklusif daripada	Penelitian yang dilakukan Joy <i>et al</i> , (2021) menggunakan gen penanda molekuler <i>matK</i> , <i>rbcl</i> dan <i>trnH</i> -. Sedangkan dalam penelitian ini menggunakan gen penanda <i>matK</i>

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
		Aligner v.4, penentuan jarak genetik menggunakan Kimura 2-Parameter (K2P) di MEGA X	<i>matK</i> . Gen <i>trnH-psbA</i> + <i>matK</i> yang dirangkai mampu menghasilkan resolusi spesies yang lebih baik	
5.	Genetic diversity, structure, and demography of <i>Pandanus boninensis</i> (Pandanaceae) with sea drifted seeds, endemic to the Ogasawara Islands of Japan: Comparison between young and	Metode ekstraksi DNA dengan metode CTAB, Amplifikasi wilayah cpDNA— <i>trnQ-rps16</i> , <i>matK</i> , dan <i>trnL-trnF</i> dengan PCR, Urutan nDNA dan cpDNA diselaraskan menggunakan clustalw, dalam perangkat lunak CodonCode Aligner	keragaman genetik penanda mikrosatelit (SSR) berbasis <i>Expressed Sequence Tag</i> (EST), keragaman nukleotida dari urutan DNA nuklir, dan keragaman haplotipe DNA kloroplas di pulau-pulau muda lebih	<i>Pandanus boninensis</i> dengan gen penanda cpDNA— <i>trnQ-rps16</i> , <i>matK</i> , dan <i>trnL-trnF</i> . Sedangkan penelitian ini mengidentifikasi <i>Pandanus conoides</i> Lam. dengan gen penanda <i>matK</i>

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
	old islands (Setsuko <i>et al</i> , 2020)	(Codon Code Corporation) dan mega 5.	rendah daripada di pulau-pulau tua.	
6.	Identifikasi Jenis- jenis <i>Pandanaceae</i> di pulau pepaya pada kawasan taman nasional teluk cenderawasih (Parinding, 2021)	Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan teknik survei lapang, wawancara semi- terstruktur, dan studi literatur untuk mengidentifikasi jenis- jenis buah pandan di Herbarium Pusat Keanekaragaman Hayati (PPKH) Universitas Papua Manokwari.	Di Pulau Pepaya, kawasan Taman Nasional Teluk Cenderawasih, ditemukan tiga jenis pandan, yaitu <i>Pandanus tectorius</i> , <i>Pandanus</i> <i>odoratissimus</i> , dan <i>Pandanus</i> <i>polycephalus</i> .	Penelitian yang dilakukan Parinding (2021) mengidentifikasi secara morfologi. Sedangkan dalam penelitian ini mengidentifikasi menggunakan karakter morfologi dan molekuler

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
7.	Morfologi Buah Selama Tahap Perkembangan Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i>) (Santoso <i>et al</i> , 2011)	Pengamatan langsung karakteristik morfologi dilakukan pada tiga kultivar buah merah berumur 8 tahun pada empat tingkat kematangan: buah muda, sedikit matang, matang, dan lewat matang.	Ukuran bulir mencapai maksimum saat buah matang dan mengeluarkan minyak saat ditekan. Warna permukaan buah bervariasi antar kultivar, mulai dari merah muda (buah muda) hingga merah tua (buah matang)	Penelitian yang dilakukan Santoso <i>et al</i> , (2011) mengamati morfologi organ buah selama masa perkembangan buah. Sedangkan dalam penelitian ini mengamati organ buah saat buah sudah dipanen
8.	Identification Of Pandan Plant (<i>Benstonea</i> Sp) From Riau,	Penelitian ini menggunakan tiga kode batang DNA: <i>matK</i> , <i>rbcL</i> ,	dendrogram yang dihasilkan menunjukkan bahwa Pandan dari	Penelitian yang dilakukan Roslim (2017) menggunakan gen

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
	Indonesia Using Three Dna Barcodes (Roslim, 2017)	dan intergenic spacer trnL-trnF Metode ekstraksi DNA menggunakan Dneasy Plant Mini Kit (QIAGEN), amplifikasi DNA dengan PCR, Elektroforesis, sekuensing. Perangkat lunak BLASTn, BioEdit, dan MEGA digunakan untuk menganalisis data.	Riau memiliki hubungan terdekat dengan beberapa spesies Benstonea daripada Pandanus, Martellidendron, dan Freycinetia. Dapat disimpulkan bahwa nama ilmiah Pandan dari Riau hanya dapat ditentukan sampai tingkat genus, yaitu Benstonea sp. Hal	penanda molekuler <i>matK</i> , <i>rbcL</i> , dan intergenic spacer trnL-trnF. Sedangkan dalam penelitian ini menggunakan gen penanda <i>matK</i>
9.	The complete chloroplast genome of <i>Pandanus</i>	Ekstraksi DNA genomik total dilakukan menggunakan FavorPrepTM Plant	Genom kloroplas, yang panjangnya 157.839 bp, mengandung total	Analisis data yang digunakan dalam penelitian Chin <i>et al</i> (2024)

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

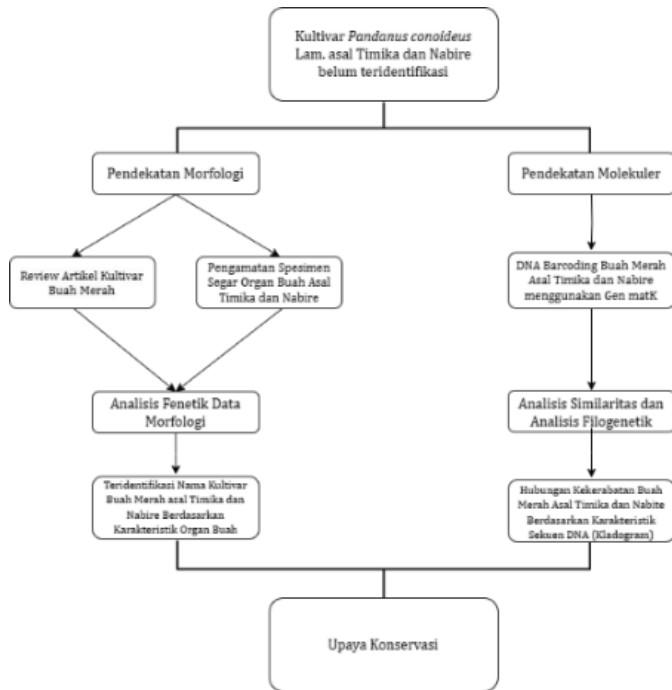
No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
	<i>amaryllifolius</i> Roxb. ex Lindl. (Pandanaceae) and its phylogenetic relationship (Chin <i>et al</i> , 2024)	Ekstraksi DNA genom menggunakan Genomic DNA Extraction Mini Kit (Favorgen, Cina). Data mentah diolah dengan NOVOWrap v1.20, menggunakan urutan rbcl dari <i>P.</i> <i>amaryllifolius</i> (GenBank: MZ422731) sebagai benih. Genom dirakit dengan Geneious Prime v.2022.0.2.	133 gen, termasuk 87 protein-coding (CDS), 38 tRNA, dan delapan gen rRNA. Kandungan G/C secara keseluruhan adalah 37,7%. Analisis filogenetik menggunakan 79 CDS unik yang sama mengungkapkan hubungan monofiletik di Pandanales.	menggunakan NOVOWrap. Sedangkan analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan software MEGA-X
10.	Complete plastome sequence of	Sekitar 6 Gb data bersih dikumpulkan terhadap plastom <i>Carludovica</i>	Plastom memiliki panjang 159.362 bp dan mengandung	Pada penelitian Tan <i>et al</i> , (2019) menggunakan genom

Tabel 2. 2 Lanjutan. Penelitian terdahulu yang relevan

No	Judul/Penulis /Jurnal/Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
	<i>Pandanus tectorius</i>) Parkinson ex Du Roi (Pandanaceae) (Tan <i>et al</i> , 2019	palmata (NC_026786.1) menggunakan MITO bim v1.8. Plastom dianotasi menggunakan Geneious R8.0.2 terhadap plastom Carludovica palmata (NC_026786.1). Anotasi dikoreksi dengan DOGMA.	struktur gen plastom angiosperma, Plastom mengandung 114 gen, yang terdiri dari 80 gen pengkode protein unik, 30 gen tRNA unik, dan 4 gen rRNA unik (5S rRNA, 4.5S rRNA, 23S rRNA, dan 16S rRNA). Kandungan A/T secara keseluruhan dalam plastom <i>P. tectorius</i> adalah 62,40%	dari plastid atau Plastom (Genom Kloroplas). Sedangkan pada penelitian ini menggunakan whole genom sequencing

C. Kerangka Berpikir

Upaya identifikasi kultivar *Pandanus conoideus* Lam. dari Timika dan Nabire dilakukan dengan menggabungkan analisis morfologi dan molekuler. Tujuan dari analisis morfologi adalah mengidentifikasi kultivar berdasarkan karakteristik fisik buah melalui studi literatur, observasi langsung, dan analisis fenetik. Sementara itu, analisis molekuler bertujuan untuk menentukan hubungan kekerabatan antar kultivar menggunakan DNA *barcoding* dan analisis filogenetik. Penggunaan kedua pendekatan ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah untuk mendukung program konservasi kultivar buah merah. Gambaran umum konsep penelitian ini disajikan dalam bagan alir di Gambar 2.6.



Gambar 2. 6 Alur kerangka berpikir penelitian

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

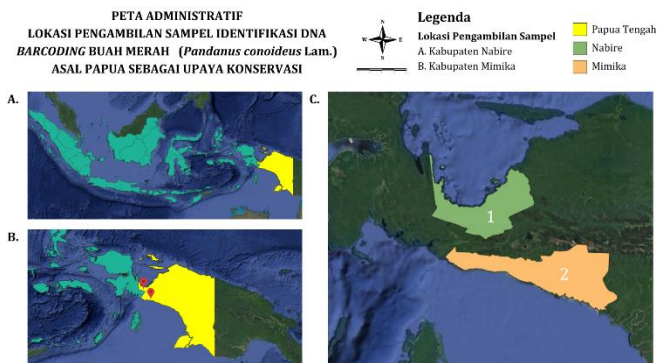
A. Jenis Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah kualitatif deskriptif. Pendekatan ini dipilih karena DNA *barcoding* berfungsi untuk mengidentifikasi jenis spesies berdasarkan sekuens DNA tertentu, bukan untuk mengukur jumlah atau frekuensi spesies dalam populasi. Penelitian ini bertujuan untuk menggali dan memperjelas fenomena identifikasi spesies melalui DNA *barcoding*. Penelitian deskriptif dalam konteks ini berfokus pada penggambaran karakteristik dan aplikasi DNA *barcoding* dalam penentuan spesies, tanpa menguji hubungan antar variabel (Syahrizal dan Jailani, 2023). Dalam DNA *barcoding*, selain menggunakan metode kualitatif deskriptif, teknik lain yang diterapkan adalah studi pustaka yaitu dengan mencari referensi dari sumber internet, contohnya sekuens DNA dalam BLAST (Hanfyah *et al.*, 2022).

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan September-Desember 2024 di dua lokasi yaitu Kabupaten Timika dan Kabupaten Nabire, Provinsi

Papua Tengah (Gambar 3.1.) Identifikasi secara morfologi dan molekuler serta analisis data dilaksanakan pada bulan Desember 2024 – April 2025 di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.



Gambar 3. 1 Lokasi Pengambilan Sampel A. Peta Indonesia, B. Titik Lokasi Peta Papua, C. Peta (1) Kabupaten Nabire dan (2) Kabupaten Timika (Sumber: Google Earth Satelit QGIS 3.38.3)

A. Sumber Data

Sumber data adalah segala sesuatu yang dapat memberikan informasi terkait data. Berdasarkan teknik pengumpulannya, terdapat dua jenis data. Data primer adalah data asli yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Dalam penelitian ini, data primer

diperoleh melalui pengamatan morfologi dan molekuler sampel buah merah dari Timika dan Nabire. Sementara itu, data sekunder adalah data yang diperoleh secara tidak langsung dari objek penelitian melainkan dari situs internet atau referensi yang relevan dengan topik penelitian. Contohnya, ciri karakteristik buah merah yang digunakan dalam pengamatan morfologi diambil dari beberapa referensi artikel, dan sekuens DNA hasil BLAST yang digunakan sebagai analisis data molekuler (Edi, 2016)

B. Metode dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Karakterisasi Morfologi

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pita diameter, penggaris 30 cm (BUTTERFLY), jangka sorong atau *digital scaliper* 150 mm (KRISBOW), timbangan 100 g (STEELE), neraca analitik (METTLER TOLEDO), Aplikasi Altimeter dan Google Earth, mikroskop stereo, dan kamera HP.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ buah dan daun buah

merah (*P. conoideus* Lam.) dari Timika dan Nabire, Provinsi Papua Tengah.

b. Karakterisasi Molekuler

Alat yang digunakan yaitu spatula, Erlenmeyer 250 ml (IWAKI), gelas ukur 50 ml (IWAKI), *microwave*, *gel documentation set* (BIORAD), kit elektroforesis, mortar, pestle, gunting, PCR-Thermal Cycler (SIMPLIAMP), Digital Dry Bath (BIORAD), waterbath (LEICA) *microsentrifuge*, oven, mikropipet (BIORAD), BR-2000 vortexer (BIORAD), *sentrifuge* (EPPENDORF 5424R), autoklaf (HIRAYAMA HICLAVE HVE-50), UV Tray, PCU computer, kulkas, dan rak microtube.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ buah dan daun buah merah (*P. conoideus* Lam.) dari Kabupaten Timika dan Kabupaten Nabire, Provinsi Papua Tengah. Bahan lain yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain Wizard® Genomic DNA Purification kit PROMEGA, primer *sub-region matK*, yaitu primer *forward* 5'-CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C-3' dan primer *reverse*

5'-TCT AGC ACA CGA AAGTCG AAG T-3'
 (Cuénoud *et al*, 2002), buffer TBE 1X (Tris-Borate EDTA pH 8,3), Ready Mix PCR, primer forward dan reverse primer, gel agarose, *silica gel*, *microtube*, aluminium foil, pipet tip, etanol absolut, GelRed, *loading dye* dan akuades.

2. Instrumen Pengumpulan Data

Identifikasi morfologi bertujuan menentukan kultivar pada buah merah. Pengamatan morfologi dua sampel organ buah dilakukan langsung. Warna buah diamati secara visual, berat buah diukur dengan penimbangan (kg), panjang buah diukur dari pangkal hingga ujung (cm), dan bentuk penampang buah diamati secara visual serta didukung referensi ilmiah. Karakterisasi pengamatan morfologi menggunakan lembar observasi pada Tabel 3.1 dari Aman *et al.* (2019). Hal ini disebabkan *P. conoideus* Lam. belum memiliki panduan identifikasi morfologi buah merah dan adanya keterbatasan sampling yang hanya menggunakan organ buah.

Identifikasi karakter molekuler dilakukan dengan DNA *barcoding*, yaitu metode yang menggunakan satu atau beberapa *region* DNA untuk mengidentifikasi spesies (Khaira *et al.*, 2024). Identifikasi molekuler diawali dengan ekstraksi DNA untuk memperoleh DNA murni dengan memisahkan DNA dari komponen lain secara mekanis atau kimiawi. Selanjutnya, dilakukan amplifikasi DNA dengan *region matK*, diikuti proses sekuensing yang dikirimkan ke penyedia jasa sekuensing. Terakhir, dilakukan analisis data untuk mendapatkan hubungan kekerabatan antar sampel dengan sekuens yang terdaftar di NCBI.

3. Tahapan Penelitian

a. Pengambilan sampel

Lokasi pengambilan organ buah kultivar buah merah (*P. conoideus* Lam.) di Kabupaten Nabire dan Kabupaten Timika ditunjukkan pada Peta Lokasi Administratif Gambar 3.1. Lokasi sampel dipetakan menggunakan data satelit QGIS 3.38.3. Data ketinggian (*elevasi*) lokasi pengambilan sampel di Timika dan

Nabire diperoleh dengan memanfaatkan aplikasi altimeter yang pengukurannya didasarkan pada tampilan satelit dari Google Maps. Buah merah yang diambil dalam keadaan segar dan memiliki daun pelindung (braktea). Untuk pengawetan, sampel daun dimasukkan ke dalam kantong teh, diberi label, dan dikeringkan dalam wadah berisi silika gel. Sementara itu, buah disimpan dalam lemari pendingin pada suhu -20°C untuk menjaga sampel buah hingga proses identifikasi morfologi dilakukan.

b. Identifikasi karakter morfologi

Pengamatan karakter morfologi pada sampel *Pandanus conoideus* Lam. mengacu pada artikel Santoso *et al*, (2011); Wawo *et al*, (2019); (Sarungallo *et al*, 2019); dan Aman *et al*. (2019), yang mencakup karakteristik organ buah, meliputi buah utuh (*cepallum*) dengan pengamatan warna, pengukuran panjang menggunakan penggaris dan meteran, penimbangan berat menggunakan timbangan (kg), dan penentuan bentuk penampang secara

visual, begitu pula dengan empulur (*pedicel*), Sedangkan, karakteristik organ bulir biji buah (*drupe*) diamati pada berat total bulir per buah (kg), rata-rata panjang (mm), dan berat (g) bulir di ujung, tengah, dan pangkal buah, yang tercantum dalam Tabel 3.1.

c. Isolasi DNA

1) Penggerusan Sampel

Daun buah merah yang telah disimpan dan dikeringkan dalam silika gel dibersihkan dengan penyemprotan alkohol 70%. Selanjutnya, daun-daun tersebut dibersihkan dari kotoran atau hama yang mungkin masih menempel dengan menggunakan tisu kering. Pada tahap ini, kebersihan daun buah merah harus dipastikan untuk mencegah kontaminasi jamur selama penyimpanan.

Daun buah merah kering dipotong kecil-kecil menggunakan gunting steril dan dimasukkan ke dalam mortar dan alu yang telah disterilkan. Serbuk daun sebanyak 40 mg ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 mL. Setelah

itu, nitrogen cair ditambahkan ke dalam mortar, dan daun digerus hingga menjadi serbuk atau bubuk halus.

2) Isolasi DNA Metode kit Promega

DNA diekstraksi menggunakan kit Promega dengan jenis *Wizard® Genomic DNA Purification Kit Technical Manual*. Sebanyak 600 µl *Nuclei Lysis Solution* ditambahkan ke sampel lalu divortex selama 1-3 detik dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 15 menit. Sampel ditambahkan dengan 3 µl *RNase Solution* dan diinvert sebanyak 2-5 kali. Sampel lanjut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Setelah itu sampel dibiarkan pada suhu ruangan selama 5 menit, lalu ditambahkan 200 µl *Protein Precipitation Solution* dan divortex selama 20 menit. Kemudian, sampel disentrifugasi selama 3 menit pada 15.000x gforce. Setelah itu, supernatan yang mengandung DNA dipindahkan ke *microtube* 1,5 ml yang berisi 600 µl isopropanol suhu ruangan. Lalu, sampel diinvert hingga untai DNA terlihat seperti benang.

Kemudian, sampel disentrifuge selama 1 menit pada 15.000x gforce pada suhu ruangan 25°C. Cairan supernatan dibuang dengan hati-hati, lalu *microtube* dibalik di atas kertas penyerap hingga pellet kering selama 15 menit. Lalu, 100 µl DNA *Rehydration* ditambahkan dengan menginkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam dengan membolak-balikkan setiap 15 menit sekali. DNA disimpan pada suhu 4°C.

3) Amplifikasi DNA Barcode *matK*

Amplifikasi dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer *sub-region matK*, yaitu primer 390F (*forward*) 5'-CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT C-3' dan primer 1326R (*reverse*) 5'-TCT AGC ACA CGA AAGTCG AAG T-3' (Cuénoud *et al*, 2002) dengan gen target ~930 bp. Optimasi primer menggunakan volume total 20 µl. Untuk pengiriman sampel sekuensing, digunakan volume total 50 µl yang terdiri dari 25 µL PowerPol 2x PCR Mix, 20 µL NFW, 1 µL primer *forward*, 1 µL primer *reverse* dan 3µL DNA *template*.

Amplifikasi menggunakan gen *matK* dilakukan dengan *Thermal Cycler PCR SimpliAmp*. Tahap PCR dimulai dengan pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 95°C selama 3 detik, *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik, dan *extension* 72°C selama 30 detik. Proses PCR diakhiri dengan 1 siklus *post-extension* selama 5 menit pada suhu 72°C , dan pendinginan selama 10 menit pada suhu 20°C (Zebua *et al.*, 2019).

4) Visualisasi DNA dan Sekuensing

Hasil amplifikasi divisualisasikan dengan metode elektroforesis. Elektroforesis membutuhkan gel agarose sebagai medianya. Pada umumnya, gel agarose yang digunakan untuk elektroforesis adalah gel agarose konsentrasi 1%.

Gel agarose dibuat dengan penambahan 1 μL pewarna DNA (GelRed) Diamond™ Nucleic Acid Dye Promega, lalu dipanaskan hingga larut. Larutan agarose kemudian dituangkan ke dalam cetakan gel yang telah dipasang sisir. Gel yang

telah memadat ditempatkan dalam elektroforesis yang berisi buffer TBE 1X.

Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100volt selama 30 menit. Setelah selesai, gel dipindahkan ke transilluminator UV untuk visualisasi pita DNA menggunakan GelDoc. Hasil visualisasi kemudian disimpan dalam format digital dan dikirim untuk analisis sekuensing. Hasil PCR diserahkan kepada perusahaan jasa Laboratorium *First Base* (1st Base) Malaysia.

4. Analisis Data

a. Analisis Data Morfologi

Pengambilan data dalam penelitian ini hanya difokuskan pada sifat fisik organ buah meliputi buah utuh (*cepallum*) pada Tabel 3.1, empulur (*pedicel*) Tabel 3.2 dan bulir biji buah (*drupe*) yang tertera dalam Tabel 3.3

Tabel 3. 1 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik Cepallum, Empulur dan Bulir biji *P. conoideus* Lam.

No	Ciri buah utuh (<i>cepallum</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Warna		
2.	Panjang (cm)		
3.	Berat (kg)		
4.	Bentuk penampang		

Tabel 3. 2 Karakteristik Fisik Empulur *P. conoideus* Lam.

No	Ciri Empulur buah (<i>pedicel</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Warna		
2.	Panjang (cm)		
3.	Berat (kg)		
4.	Bentuk penampang		

Tabel 3. 3 Karakteristik Fisik Drupe *P. conoideus* Lam.

No	Ciri bulir biji buah (<i>drupe</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Berat total bulir per buah (kg)		
2.	Panjang bulir (mm)		
3.	Berat bulir (g)		

b. Analisis Data Molekuler

Analisis hubungan kekerabatan antar spesies dilakukan dengan

menyejajarkan sekuens DNA hasil sekuensing dalam format elektroforegram .AB1 dari gen *matK* menggunakan perangkat lunak MEGA 11, kemudian diikuti dengan evaluasi hasil penyejajaran melalui pencarian BLAST di GenkBank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) untuk mengidentifikasi sekuens DNA dengan kemiripan tertinggi.

Berdasarkan analisis, hubungan kekerabatan yang sangat dekat antar spesies ditunjukkan oleh tingkat kemiripan 80-100%. Setelah penyejajaran, pohon filogenetik disusun dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average* (UPGMA) menggunakan analisis *bootstrap* sebanyak 1000 kali ulangan, seperti yang dijelaskan oleh Retnaningati (2017). Untuk mendapatkan parameter evolusi yang lebih akurat, model evolusi *Tamura 3-parameter* diterapkan pada gen *matK*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil

1. Identifikasi Karakter Morfologi *P. conoideus*

Lam.

Sampel buah merah dari Timika menunjukkan tingkat kematangan buah matang. Hal ini didukung oleh ciri-ciri buah berwarna merah tua mengkilap, bulir buah yang lebih lunak dan mudah dilepas dari empulurnya, meskipun terdapat sedikit kesulitan pada bagian pangkalnya. Sementara itu, buah merah dari Nabire menunjukkan tingkat kematangan sub fase 1 buah lewat matang, yang dicirikan oleh bulir buah yang tidak melekat pada empulurnya sehingga mudah terlepas sepanjang 3-5 cm. Penentuan tingkat kematangan buah ini didasarkan pada penelitian Santoso *et al.* (2011).

Informasi ketinggian (*elevasi*) lokasi pengambilan sampel di Timika dan Nabire didapatkan melalui penggunaan aplikasi altimeter yang pengukurannya berdasarkan tampilan satelit Google Maps. Sampel dari Timika diambil dari Kelurahan Pasar Sentral, Distrik Mimika Baru,

Kabupaten Timika dengan ketinggian 19,22 meter di atas permukaan laut. Sementara itu, sampel dari Nabire berasal dari Kampung Kalisusu, Distrik Nabire, Kabupaten Nabire yang ketinggiannya 18,65 meter di atas permukaan laut.

Pengamatan terhadap *P. conoideus* Lam. yang berasal dari Timika dan Nabire telah diteliti, dengan berfokus pada tiga bagian organ buahnya yaitu buah utuh (*cepallum*), empulur buah atau (*pedicel*) dan bulir biji buah atau (*drupe*) seperti yang tertera pada Tabel 4.1. dan dapat dilihat pada Gambar 4.1

a. Karakteristik organ buah utuh (*cepallum*)

Tabel 4. 1 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik *Cepallum P. conoideus* Lam.

No	Ciri buah utuh (<i>cepallum</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Warna	Merah gelap dibagian pangkal dan merah di pucuk	Merah gelap dibagian pangkal dan merah di pucuk
2.	Panjang (cm)	39	48
3.	Berat (kg)	2,1	5,5
4.	Bentuk penampang	Silinder meruncing pada ujung buah	Silinder meruncing pada ujung buah

b. Karakteristik organ empulur buah (*pedicel*)

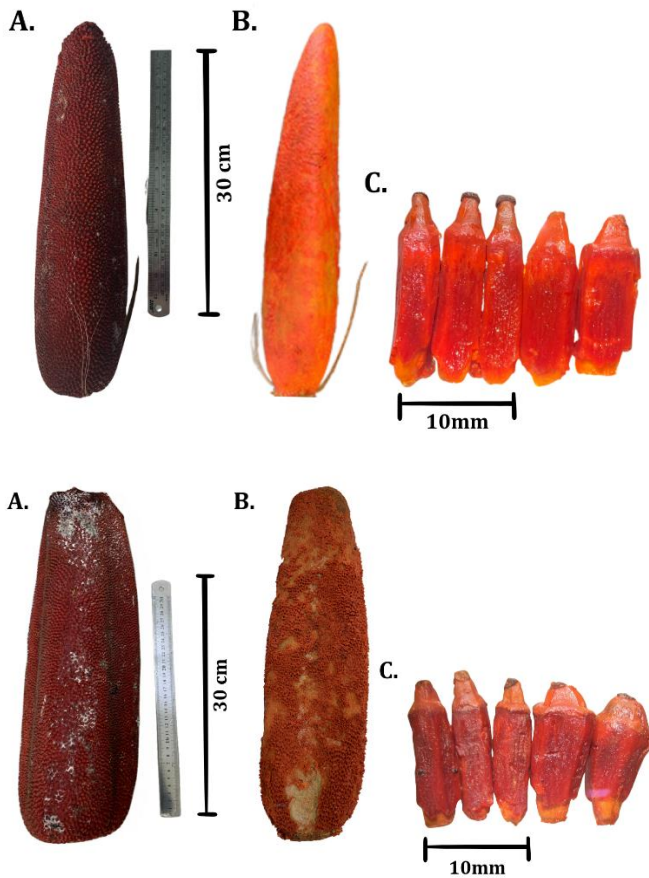
Tabel 4. 2 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik empulur buah (*pedicel*) *P. conoideus* Lam.

No	Ciri Empulur buah (<i>pedicel</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Warna	Putih	Putih
2.	Panjang (cm)	38	47
3.	Berat (kg)	1,15	3,1
4.	Bentuk penampang	Silinder lancip pada ujung buah	Silinder tumpul pada ujung buah

c. Karakteristik organ bulir biji buah (*drupe*)

Tabel 4. 3 Hasil Pengukuran Karakteristik Fisik bulir biji buah (*drupe*) *P. conoideus* Lam.

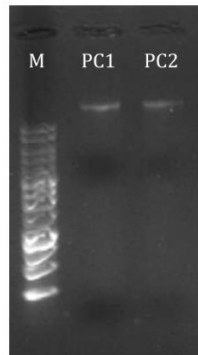
No	Ciri bulir biji buah (<i>drupe</i>)	Sifat ciri	
		Timika	Nabire
1.	Berat total bulir per buah (kg)	1,1	2,4
2.	Panjang bulir (mm)	14,43	16,06
3.	Berat bulir (g)	0,14	0,15



Gambar 4.1 Bagian buah merah; *cepallum* (A); *pedicel* (B) dan *drupe* (C) asal Timika (bagian atas); dan Nabire (bagian bawah) (Sumber: Dokumentasi penelitian)

2. Isolasi DNA Genom *P. conoideus* Lam.

Isolasi DNA genom *P. conoideus* Lam. dilakukan pada tanaman dari setiap lokasi pengambilan sampel. Sampel asal Timika diberi kode PC1, sedangkan sampel asal Nabire diberi kode PC2 yang dapat dilihat pada Gambar 4.2. Isolasi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur kit PROMEGA dengan jenis *Wizard® Genomic DNA Purification Kit Technical Manual*.



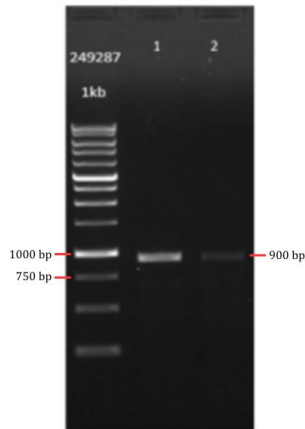
Gambar 4.2 Hasil visualisasi isolasi DNA genom kedua buah merah; M: DNA Ladder 1Kb; (PC1) buah merah asal Timika; (PC2) buah merah asal Nabire (Dokumentasi penelitian)

Berdasarkan hasil visualisasi ekstraksi DNA genom buah merah yang dapat dilihat pada Gambar 4.2

dapat diketahui bahwa buah merah asal Timika (PC1) memiliki kondisi pita band DNA genom yang cukup tipis dan tidak ada *smear* (pengotor), sedangkan pada sampel asal Nabire (PC2) memiliki pita band DNA genom yang cukup tebal dan tidak ada *smear*. Kualitas isolasi DNA genom yang baik akan berpengaruh pada keberhasilan proses amplifikasi sampel.

3. Amplifikasi DNA *Barcoding matK* Buah Merah

Amplifikasi sampel *P. conoideus* Lam. PC1 dan PC2 menggunakan pasangan primer *matK* berhasil dilakukan, yang ditandai dengan munculnya pita DNA pada hasil visualisasi. Pita DNA yang terlihat memiliki ukuran sekitar ± 900 bp yang disajikan pada Gambar 4.3. Berdasarkan Gambar tersebut terlihat bahwa kualitas dari kedua sampel teramplifikasi dengan baik, namun sampel PC2 memiliki kondisi pita DNA yang tipis.

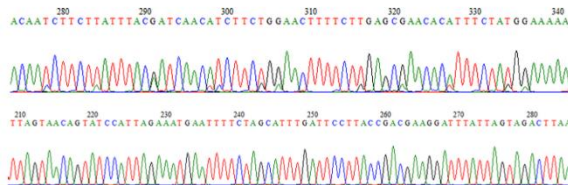


Gambar 4.3 Hasil visualisasi amplikon DNA kedua buah merah menggunakan *DNA barcode matK*; *DNA Ladder 1Kb*; (1) buah merah asal Timika (PC1); (2) buah merah asal Nabire (PC2)

4. Elektroforegram sekuens Buah Merah

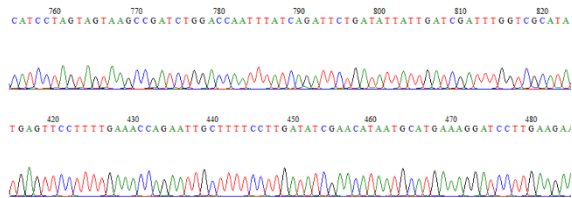
Proses sekuensing dilakukan dari dua arah, yaitu arah *forward* ($5' \rightarrow 3'$) dan arah *reverse* ($3' \rightarrow 5'$). Data yang dihasilkan dari proses sekuensing berupa elektroforegram yang merupakan representasi grafis dari fragmen-fragmen DNA, dan disimpan dalam format file *AB1* (lampiran 1). File ini berupa dua file yaitu file sekuens *forward* dan sekuens *reverse* seperti yang terlihat di Gambar 4.4 dan 4.5. Setiap file berisi elektroforegram dengan empat warna yang mewakili jenis nukleotida. Warna biru menunjukkan sitosin (C),

merah untuk timin (T), hitam untuk guanin (G), dan hijau untuk adenin (A).



Gambar 4.4 Elektroforegram ampikon sampel *P. conoideus* Lam. asal Timika (PC1). Atas (*forward*); Bawah (*reverse*); Hijau: Adenin (A); Merah: Timin (T); Hitam: Guanin (G); Biru: Sitosin (C)

Panjang sekuens pada setiap sampel bervariasi. Misalnya, pada sampel PC1, panjang sekuens *forward* adalah 913 bp, sedangkan sekuens *reverse* memiliki panjang 917 bp. Berdasarkan data elektroforegram, bagian *reverse* dari sampel PC1 memiliki hasil yang lebih baik karena kondisi puncaknya lebih stabil dan terpisah dengan jelas, tidak tumpang tindih. Sementara itu, bagian *forward* dari sampel PC1 memiliki hasil yang kurang optimal karena masih terdapat beberapa *peak* yang bertumpuk, seperti yang terlihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.5 Elektroforegram ampikon sampel *P. conoideus* Lam. asal Nabire (PC2). Atas (*forward*); Bawah (*reverse*); Hijau: Adenin (A); Merah: Timin (T); Hitam: Guanin (G); Biru: Sitosin (C)

Panjang sekuens *forward* dari sampel PC2 adalah 920 bp, sementara panjang sekuens *reverse*-nya 919 bp. Hasil sekuens kedua sampel dinyatakan baik karena ukurannya berada dalam rentang gen target primer *forward* dan *reverse* yang diperkirakan sekitar 930 pb (Cuénoud et al., 2002). Data elektroforegram untuk sampel PC2 menunjukkan bahwa puncak pada bagian *forward* dan *reverse* terpisah dengan jelas dan tidak bertumpuk, terlihat pada Gambar 4.5. Selanjutnya, hasil sekuensing akan melalui proses *contig*, yaitu penggabungan antara sekuens *forward* dan *reverse* untuk membentuk satu set sekuens DNA.

Analisis elektroforegram menunjukkan bahwa hasil *contig* dari sampel PC1 memiliki panjang sekuens 895 pasangan basa (bp), sementara hasil *contig* sampel

PC2 berukuran 893 bp. Kedua hasil contig ini tersedia dalam format FASTA pada lampiran 3. Data ini menguatkan hasil yang sudah ada sebelumnya terkait ukuran panjang amplikon yang diperoleh dari proses elektroforesis. Hal ini sesuai, dengan artikel Cuénoud *et al.* (2002), bahwa primer 390F dan 1326R adalah primer universal untuk angiospermae. Primer ini menghasilkan fragmen DNA sepanjang ~930 bp dari gen *matK*.

5. Hasil BLASTn *P. conoideus* Lam.

Sekuens sampel PC1 dan PC2 dianalisis menggunakan metode *Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTn) untuk menyejajarkan dan membandingkan urutan DNA dengan database NCBI. Proses ini difokuskan pada pencarian sekuens pembanding *matK* dari spesies *P. conoideus* Lam. asal Timika dan Nabire. Metode ini memanfaatkan algoritma penyejajaran untuk menganalisis kesamaan sekuens nukleotida dalam database NCBI. Hasil analisis BLASTn menunjukkan bahwa sampel PC1 memiliki kesamaan dengan 72 spesies dari genus *Pandanus* serta 14 genus lainnya, yang dirangkum dalam Tabel Lampiran 1. Sementara itu, sampel PC2

menunjukkan kemiripan dengan 51 spesies dari genus *Pandanus* serta 13 genus lainnya, yang dapat dilihat pada Tabel Lampiran 2.

Terkait dengan proses *alignment* dan rekonstruksi pohon filogenetik, dipilih 10 sekuens dari 100 spesies yang muncul. Spesies yang digunakan sebagai sekuens pembanding dipilih berdasarkan nilai expectation value (*E-value*), *percent identity*, dan *query cover* tertinggi, yaitu mendekati 100%, yang disajikan pada Tabel 4.2 dan 4.3 Hasil *alignment* dengan 20 sekuens pembanding kedua sampel dan satu *outgroup* dari database NCBI disajikan pada Gambar lampiran 1.

Tabel 4.2 Daftar Sekuens Pembanding dari NCBI Berdasarkan Hasil BLASTn sampel PC1

No.	Accession number	Nama Spesies	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per.Ident
1.	LC491423.1	<i>P. conoideus</i>	1653	1653	100%	0.0	100.00%
2.	LC491425.1	<i>P. conoideus</i>	1653	1653	100%	0.0	100.00%
3.	LC491427.1	<i>P. conoideus</i>	1653	1653	100%	0.0	100.00%
4.	LC491424.1	<i>P. conoideus</i>	1648	1648	100%	0.0	99.89%
5.	LC491426.1	<i>P. conoideus</i>	1648	1648	100%	0.0	99.89%
6.	LC491428.1	<i>P. conoideus</i>	1646	1646	100%	0.0	99.89%
7.	AY952418.1	<i>P. tectorius</i>	1633	1633	100%	0.0	99.55%
8.	NC_070105	<i>P. amaryllifolius</i>	1631	1631	100%	0.0	99.55%
9.	NC_070192	<i>P. odorifer</i>	1615	1615	100%	0.0	99.22%
10.	JQ435565.1	<i>P. vandermeeschii</i>	1615	1615	100%	0.0	99.22%
11.	KT205206.1	<i>Cyclanthus bipartitus*</i>	*Sekuens di luar hasil BLAST yang digunakan sebagai outgrup				

Tabel 4.3 Daftar Sekuens Pembanding dari NCBI Berdasarkan Hasil BLASTn sampel PC2

No.	Accession number	Nama Spesies	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per.Ident
1.	LC491423.1	<i>P. conoideus</i>	1644	1644	100%	0.0	99.89%
2.	LC491425.1	<i>P. conoideus</i>	1644	1644	100%	0.0	99.89%
3.	LC491427.1	<i>P. conoideus</i>	1644	1644	100%	0.0	99.89%
4.	LC491424.1	<i>P. conoideus</i>	1639	1639	100%	0.0	99.78%
5.	LC491426.1	<i>P. conoideus</i>	1639	1639	100%	0.0	99.78%
6.	LC491428.1	<i>P. conoideus</i>	1637	1637	100%	0.0	99.78%
7.	AY952418.1	<i>P. tectorius</i>	1624	1624	100%	0.0	99.44%
8.	NC_070105	<i>P. amaryllifolius</i>	1622	1622	100%	0.0	99.44%
9.	NC_070192	<i>P. odorifer</i>	1605	1605	100%	0.0	99.10%
10.	JQ435565.1	<i>P. vandermeeschii</i>	1605	1605	100%	0.0	99.10%
11.	KT205206.1	<i>Cyclanthus bipartitus*</i>	*Sekuens di luar hasil BLAST yang digunakan sebagai outgrup				

Komposisi nukleotida *P. conoideus* asal Timika dan Nabire berbeda. Namun, kedua spesies ini memiliki komposisi nukleotida sitosin (C) yang sama sebanyak 17.8 % dan guanin (G) sebanyak 15.3 %. Data mengenai komposisi nukleotida untuk sampel PC1 dan PC2 dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Komposisi Nukleotida buah merah berdasarkan gen penanda *matK*

No.	Sampel	Komposisi Nukleotida (%)				Panjang sekuens (bp)
		T(U)	C	A	G	
1.	PC1	36.2	17.8	30.2	15.3	895
2.	PC2	37.0	17.8	29.9	15.3	893
3.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.2	15.3	895
4.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.2	15.3	895
5.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.2	15.3	895
6.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.3	15.2	895
7.	<i>P. conoideus</i>	36.7	17.7	30.2	15.3	896
8.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.2	15.2	894
9.	<i>P. tectorius</i>	30.3	15.2	36.6	17.9	897
10.	<i>P. amaryllifolius</i>	30.2	15.3	36.5	18.0	895
11.	<i>P. tectorius</i>	36.5	17.8	30.4	15.3	895
12.	<i>P. vandermeeschii</i>	36.5	17.8	30.5	15.2	895
13.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.0	15.3	893
14.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.0	15.3	893
15.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.0	15.3	893

Lanjutan. Tabel 4.4 Komposisi Nukleotida buah merah berdasarkan gen penanda *matK*

No.	Sampel	Komposisi Nukleotida (%)				Panjang sekuens (bp)
		T(U)	C	A	G	
16.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.1	15.2	893
17.	<i>P. conoideus</i>	36.8	17.8	30.1	15.3	894
18.	<i>P. conoideus</i>	36.9	17.8	30.0	15.1	892
19.	<i>P. tectorius</i>	30.2	15.2	36.6	18.0	895
20.	<i>P. amaryllifolius</i>	30.0	15.3	36.6	18.0	893

6. Analisis sekuens *matK* dari *P. conoideus* Lam.

Hasil analisis BLAST mengungkapkan bahwa sampel PC1 memiliki kesamaan genetik sangat tinggi (identity 99,89% - 100%) dengan enam spesies *P. conoideus* Lam. Tingkat kesamaan ini didukung oleh parameter kualitas analisis seperti, nilai *query cover* 100%, *E value* 0,0 *max score* dan total score (lihat Tabel 4.2). Sampel PC2 juga memiliki pola serupa, dengan nilai *identity* 99,78 %-99,89 % terhadap spesies yang sama. Konsistensi hasil terlihat dari nilai *query cover* 100%, *E value* 0,0 *max score* dan total score

tercantum pada Tabel 4.3. Selain itu, Tabel 4.2 dan 4.3 menyajikan daftar sekuens dan *outgroup* yang digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik serta jarak genetiknya.

Hasil perhitungan jarak genetik dari analisis BLAST dapat dilihat pada Tabel 4.5. Tabel tersebut menunjukkan bahwa antara sampel PC1 dan sampel PC2 memiliki jarak genetik sebesar 0,0011, yang mengindikasikan bahwa kedua sampel tersebut berkerabat dekat dan *conserved*. Hal serupa juga ditemukan pada sampel PC2 dengan *P. Conoideus* Lam. (nomor aksesori LC491427.1; LC491423.1 dan LC491425.1) dengan jarak genetik sebesar 0,0011. Sebaliknya, sampel PC1 dengan *P. conoideus* Lam. (nomer aksesori LC491427.1; LC491423.1 dan LC491425.1) memiliki jarak genetik sebesar 0,0000 yang mengindikasikan bahwa keduanya berkerabat paling dekat serta memiliki sekuens yang *conserved*.

Tabel 4.5 Jarak Genetik Buah Merah Asal Timika (PC1) dan Nabire (PC2) Berdasarkan Gen Penanda *Matk*

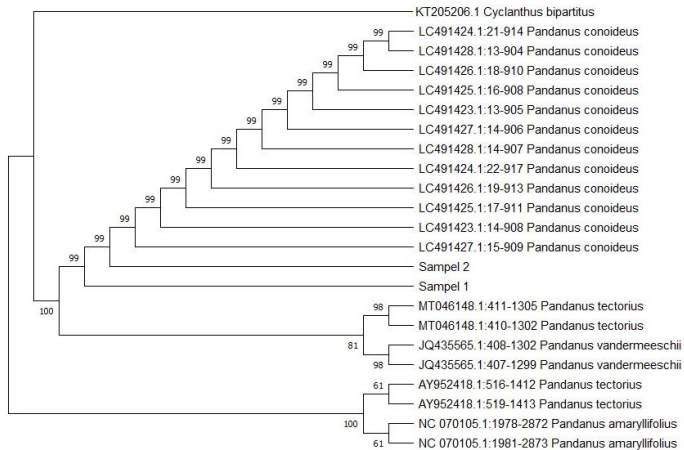
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1. Sampel PC1																							
2. Sampel PC2	0,0011																						
3. LC491427.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011																					
4. LC491423.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000																				
5. LC491425.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000																			
6. LC491426.1 <i>P. conoides</i>	0,0011	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011																		
7. LC491424.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0022	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011																	
8. LC491428.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000																
9. AY952418.1 <i>P. tectorius</i>	1,1693	1,1748	1,1693	1,1693	1,1693	1,1693	1,1693	1,1693															
10. NC_070105.1 <i>P. amaryllifolius</i>	1,1716	1,1771	1,1716	1,1716	1,1716	1,1716	1,1716	1,1716	0,0022														
11. MT046148.1 <i>P. tectorius</i>	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	1,1584	1,1607													
12. JQ435565.1 <i>P. vandermaeschii</i>	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	1,1627	1,1650	0,0045												
13. LC491427.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079											
14. LC491423.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079	0,0000										
15. LC491425.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079	0,0000	0,0000									
16. LC491426.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0022	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079	0,0011	0,0011	0,0011								
17. LC491424.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0022	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000							
18. LC491428.1 <i>P. conoides</i>	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	1,1693	1,1716	0,0079	0,0079	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011						
19. AY952418.1 <i>P. tectorius</i>	1,1586	1,1640	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586	0,0000	0,0022	1,1479	1,1521	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586	1,1586					
20. NC_070105.1 <i>P. amaryllifolius</i>	1,1609	1,1663	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	0,0022	0,0000	1,1502	1,1543	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	1,1609	0,0022				
21. MT046148.1 <i>P. tectorius</i>	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	1,1584	1,1607	0,0000	0,0045	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	1,1479	1,1502			
22. JQ435565.1 <i>P. vandermaeschii</i>	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	0,0079	0,0090	0,0079	0,0079	1,1627	1,1650	0,0045	0,0000	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079	1,1521	1,1543	0,0045		
23. KT205206.1 <i>Cyclanthus bipartitus</i>	0,0407	0,0420	0,0407	0,0407	0,0407	0,0419	0,0407	0,0407	1,1964	1,1988	0,0394	0,0394	0,0408	0,0408	0,0408	0,0408	0,0408	0,0409	1,1853	1,1877	0,0395	0,0395	

7. Analisis Filogenetik MultAlign *P. conoideus*

Lam. Region *matK*

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik disajikan pada Gambar 4.5. Rekontruksi ini menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) dan perhitungan jarak evolusi menggunakan *Tamura 3-parameter* dengan 1000 replikasi *bootstrap* (Tamura *et al.*, 2021). Dari hasil tersebut diketahui bahwa dua sampel *P. conoideus* Lam. asal Timika (PC1) dan Nabire (PC2) dengan keenam sekuens *P. conoides* Lam. dari NCBI membentuk satu klad.

Nilai *bootstrap* sampel 1 (PC1) dengan sampel 2 (PC2) sebesar 99 %, artinya kedua spesies memiliki tingkat topologi pohon filogenetik yang dapat diterima. Hal ini juga terjadi dengan sampel PC2 dengan dua belas sekuens *P. conoides* Lam. dari NCBI artinya, kedua sampel tersebut sangat mirip satu sama lain berdasarkan urutan *matK* (Tabel 4.2 dan 4.3). Kedua sampel tersebut juga sangat mirip berdasarkan karakter morfologinya (Tabel 4.1).



Gambar 4.5 Pohon Filogenetik *P. conoideus* Lam. asal Timika (PC1) dan asal Nabire (PC2) yang dihasilkan dari metode UPGMA. Model Tamura 3-parameter dengan nilai bootstrap 1000 kali.

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Karakter Morfologi *P. conoideus* Lam. asal

Timika dan Nabire

Guna melengkapi data konservasi spesies secara molekuler yang mendukung upaya konservasi genetik, diperlukan konfirmasi karakter morfologi spesimen yang bersangkutan. Dengan demikian, karakterisasi morfologi buah merah dari kedua tempat tersebut menjadi penting untuk dilakukan. Selain itu, data morfologi ini akan menjadi landasan sebelum dilakukannya analisis molekuler.

Warna *cepallum* pada kedua sampel penelitian ini adalah merah. Warna buah dipengaruhi oleh tingkat kematangan (Santoso *et al.*, 2016). Selain itu, warna merah pada buah merah mengindikasikan adanya pembentukan karotenoid (Sarungallo *et al.*, 2016). Penampang *cepallum* buah berbentuk menyerupai prisma segitiga dengan sisi-sisi tidak lurus, sehingga lebih mendekati lingkaran atau mirip silinder meruncing pada ujung buah. Karakter ini sesuai dengan penelitian Sarungallo *et al.*, (2019), yang menyatakan bahwa

cepallum memiliki bentuk silinder meruncing : membulat memanjang di pangkal, melebar atau menyempit di bagian tengah, dan mengecil di ujung.

Panjang *cepallum* buah merah dari Timika adalah 39 cm, sedangkan dari Nabire 48 cm. Murtiningrum *et al.* (2012) mengelompokkan buah merah berdasarkan panjangnya menjadi buah berukuran panjang (>50 cm), sedang (49-53 cm) dan pendek (<35 cm). Berdasarkan hal tersebut, buah merah asal Timika merupakan buah pendek, sedangkan buah asal Nabire buah sedang. Berat buah utuh dari Timika sebesar 2,1 kg, sedangkan dari Nabire sebesar 5,5 kg. Hadad *et al.* (2006) mengelompokkan buah merah menjadi kategori kecil, dengan kisaran 4-7 kg, dan buah besar kisaran 5-10 kg. Berdasarkan hal tersebut buah merah asal Timika termasuk buah kecil, sedangkan buah asal Nabire buah besar.

Pedicel berbentuk silinder segitiga dengan ujung meruncing. Bentuk *pedicel* mempengaruhi bentuk *cepallum* (Sarungallo *et al.*, 2019). Panjang *pedicel* buah dari Timika adalah 38 cm, sedangkan

buah dari Nabire 47 cm. Sarungallo *et al.* (2019) mengklasifikasikan perbedaan ukuran panjang *pedicel* menjadi tiga kategori: panjang (lebih dari 50 cm), sedang (antara 45 dan 50 cm), dan pendek (kurang dari 45 cm). Berdasarkan kategori tersebut, *pedicel* dari Timika tergolong pendek, sedangkan dari Nabire tergolong sedang. Begitu pula dengan berat *pedicel* buah dari Timika 1,15 kg, sedangkan dari Nabire 3,1 kg. Berat *pedicel* yang diukur berada dalam rentang yang sama dengan hasil penelitian Sarungallo *et al.* (2019), yang menemukan bahwa rata-rata berat *pedicel* dari 9 klon buah merah adalah antara 1 hingga 4,6 kg.

Drupe adalah bulir buah merah yang memiliki struktur berupa biji yang dikelilingi oleh daging buah (*pulp*) dan terletak di sisi luar *pedicel* seperti terlihat pada Gambar 2.3. Panjang *drupe* buah merah Timika rata-rata 14,43 (mm) dan Nabire 16,06 (mm) yang diambil sebanyak 15 *drupe* dari bagian ujung, tengah dan puncak. Ukuran *drupe* buah merah tidak seragam, dan variasi ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis dan asal buah (Murtiningrum *et al.*, 2012). Berat

per-*drupe* dari Timika rata rata 0,14 (g) dan *drupe* Nabire rata rata 0,15 (g). Untuk berat total *drupe* satu buah dari Timika 1,1 (kg), sedangkan dari Nabire 2,4 (kg).

Penentuan kultivar buah merah dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Sarungallo *et al.* (2019), Wawo *et al.* (2019), dan Aman *et al.* (2019), yang mengidentifikasi karakteristik fisik buah merah seperti panjang dan berat (tertera pada Tabel 2.2). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini menunjukkan bahwa buah merah dari Timika diduga kultivar Monsor, dan buah merah dari Nabire diduga kultivar Hibcau.

2. Isolasi DNA Genom *P. conoideus* Lam.

Sampel DNA genom buah merah diambil dari braktea atau daun pelindung buah yang masih muda dan bebas dari penyakit. Pengambilan sampel daun yang segar dan muda merupakan pilihan baik untuk memperoleh DNA yang berkualitas tinggi, meskipun setiap spesies memiliki tantangan tersendiri. Akan tetapi, daun

dewasa mengandung polifenol dan polisakarida dalam jumlah lebih tinggi (Sahu *et al.*, 2012).

Sampel daun disimpan dengan *silica gel* untuk menyerap kelembapan dan mencegah degradasi DNA serta membantu kualitasnya selama penyimpanan. Hal ini sejalan dengan penelitian Sunny *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa penyimpanan sampel daun kering *Garcia indica* dengan *silica gel* menghasilkan kualitas dan kuantitas DNA yang baik. Kedua sampel berhasil diisolasi menggunakan metode isolasi DNA dengan kit Promega.

Kualitas DNA hasil isolasi dari buah merah dianalisis secara kualitatif melalui elektroforesis, seperti yang terlihat pada Gambar 4.1. Pita DNA yang terbentuk tampak tunggal tidak ada *smear* dan jelas, menunjukkan bahwa DNA utuh dan tidak terdegradasi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rahmadara *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa kit Promega efektif dalam menghasilkan DNA berkualitas baik dengan nilai 1,8-2,0 dan

konsentrasi DNA antara 79,65-157,68 ng/ μ L, melebihi konsentrasi yang dihasilkan kit Geneaid.

Tebal dan tipis pita DNA menunjukkan tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA yang diperoleh. Adanya *smear* di bawah pita DNA mengindikasikan kerusakan fragmen DNA genom selama proses ekstraksi (Uslan dan Pharwati, 2015), sedangkan untuk ketebalan band DNA berkorelasi dengan kadar konsentrasi DNA (Alfaruqi *et al.*, 2021). Kriteria integritas DNA, konsentrasi dan kemurnian DNA menjadi parameter penilaian keberhasilan isolasi DNA. Integritas DNA dapat dipastikan melalui visualisasi pada elektroforesis gel agarosa, sedangkan konsentrasi dan kemurnian DNA diukur dengan spektrofotometri (Rahmadara *et al.*, 2022).

3. Amplifikasi DNA Barcode *matK* Buah Merah (*P. conoideus* Lam.)

Visualisasi hasil amplifikasi sampel buah merah asal Timika (PC1) dan Nabire (PC2) menunjukkan adanya pita DNA sesuai dengan target gen *matK* yaitu 900 bp yang berada di antara

750-1000 bp yang dapat dilihat pada Gambar 4.2. Hal ini sejalan dengan penelitian Schmitz-Linneweber et al., (2001) yang menggunakan primer 390F dan 1326R untuk memperkuat ~930 pasangan basa. Pada posisi 429 hingga 1313 dari sekuens *matK* di spesies *Spinacia oleracea* L., primer tersebut hampir bersifat universal untuk Angiospermae. Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan PCR meliputi: 1) konsentrasi dan kualitas DNA, 2) temperatur *annealing* untuk kedua primer, 3) konsentrasi $MgCl_2$, 4) enzim *polymerase*, 5) kualitas primer, 6) jumlah siklus PCR, 7) *deoksinukleotida triphosphate* (dNTP), dan faktor lainnya seperti larutan buffer (Gelfan dan White, 1990 dalam Setyawati & Zubaidah (2021).

Pada Gambar 4.2, terlihat bahwa kedua sampel memiliki ketebalan pita DNA yang berbeda. Sampel PC1 menunjukkan pita DNA yang tebal dan terang, sementara sampel PC2 memiliki pita DNA yang lebih tipis. Pita DNA yang tipis pada proses amplifikasi kemungkinan disebabkan oleh waktu siklus dan suhu amplifikasi yang tidak optimal.

Selain itu, komposisi PCR seperti jumlah DNA *template* yang digunakan, juga dapat mempengaruhi hasil amplifikasi (Kusuma, 2022). Salah satu penyebab rendahnya konsentrasi DNA *template* adalah degradasi DNA yang terjadi selama proses ekstraksi. Hal ini mengakibatkan berkurangnya jumlah salinan DNA yang dihasilkan selama amplifikasi, sehingga jumlah ampikon yang diperoleh hanya sedikit (Alfaruqi *et al.* 2021).

4. Elektroforegram sekuens Buah Merah (*P. conoideus* Lam.)

Hasil amplifikasi dikirim ke perusahaan jasa sekuensing. Hasil yang diperoleh berupa dua file berformat AB1 (*forward* dan *reverse*) untuk setiap sampel berupa elektroforegram, yang tercantum dalam lampiran 1. Sampel PC1 memiliki sekuens *forward* sepanjang 913 bp dan sekuens *reverse* 917 bp, sedangkan sampel PC2 menghasilkan sekuens *forward* 920 bp dan sekuens *reverse* 919 bp.

Elektroforegram menunjukkan urutan DNA dalam bentuk “*peak*” dengan empat warna berbeda.

Setiap warna mewakili salah satu dari empat nukleotida (A,C,G,T) yang membentuk DNA (Anazawa *et al.*, 2022). Elektroforegram sampel PC1 dan PC2 memperlihatkan kualitas sekuens yang rendah pada bagian awal dan akhir. Mengingat kesalahan sekuensing DNA sering terjadi pada area tersebut, peneliti biasanya akan memangkas dan menghilangkan bagian berkualitas buruk ini sebelum melakukan analisis lebih lanjut. (Al-Shuhaib *et al.*, 2023). Oleh karena itu, proses penyusunan *contig* diperlukan untuk menggabungkan serangkaian sekuens DNA yang saling tumpang guna menghasilkan sekuens genom yang lebih lengkap.

Setelah kedua file digabungkan menjadi *contig*, langkah selanjutnya adalah menyejajarkan (*alignment*) urutan basa nitrogennya. *Contig* dari sampel PC1 dan PC2 kemudian dianalisis menggunakan BLASTn untuk mencari similaritas sekuens dengan spesies lain. Hasil analisis menunjukkan adanya 100 spesies yang memiliki kemiripan urutan basa nitrogen. Dari 100 spesies tersebut, dipilih 10 sekuens yang paling mirip dari

sampel PC1 berdasarkan *query cover*, *E value* dan *percent identity*-nya. Informasi detail mengenai sekuens yang dipilih dapat dilihat pada Tabel 4.1, dan Tabel 4.2 untuk sampel PC2.

Percent identity yang tinggi mengindikasikan tingkat kemiripan dan homologi antara dua sekuens, serta variasi genetik yang rendah antar spesies (Perwitasari *et al.*, 2020). Nilai *E value* sebesar 0,0 menandakan tingkat homologi yang sangat baik (Lobbi, 2024) dan pensejajaran sekuens yang akurat (Perwitasari *et al.*, 2020). Selain 20 sekuens hasil BLAST dari kedua sampel, ditambahkan juga *outgroup*. Keberadaan *outgroup* sangat penting dalam membangun pohon filogenetik. Dalam hal ini, *Cyclanthus bipartitus* dengan nomor aksesori KT205206.1 yang termasuk famili Cyclanthaceae, ordo Pandanales dipilih sebagai *outgroup* (Zebua *et al.*, 2019). Penambahan *outgroup* ini bertujuan untuk mengidentifikasi karakter primitif (plesiomorf) dan karakter turunan (apomorf) pada kelompok yang diteliti (in group), serta untuk menentukan titik awal evolusi dalam pohon filogenetik (Subari *et al.*, 2021).

5. Hasil BLASTn Buah Merah (*P. conoideus* Lam.)

Sekuens hasil BLAST disejajarkan (*alignment*) dengan kedua sampel dan satu sekuens dari famili Cyclanthaceae sebagai *outgroup*. Proses pensejajaran (*alignment*) menggunakan program *ClustalW* pada aplikasi MEGA11 untuk melihat kesamaan dari urutan basa nitrogen sampel *P. conoideus* Lam. asal Timika dan Nabire dengan sekuens hasil BLAST sekaligus *outgroup*. Hasil dari proses pensejajaran terhadap 904 bp sekuens menunjukkan adanya *Gap* yang terlihat pada Gambar tabel 1. *Gap* yang muncul selama proses pensejajaran disebabkan oleh adanya daerah *conserve* dan variasi pada gen *matK* yang mengindikasikan adanya mutasi, insersi, delesi atau substitusi nukleotida (Pharwati & Rosiana, 2024). Proses pensejajaran sekuens ini menunjukkan bahwa terdapat 390 *conserve* dan 514 variasi dari 20 sekuens hasil BLAST dan satu *outgroup*. Gen *matK* menunjukkan tingkat variasi yang tinggi pada tingkat genus, tetapi tidak pada tingkat spesies (Abbas et al., 2020).

Data komposisi nukleotida gen mengindikasikan adanya variasi genetik, baik di dalam maupun antar populasi suatu spesies (Susan *et al.*, 2024). Sampel PC1 menunjukkan kemiripan komposisi basa nitrogen dengan *P. Conoideus* Lam., terutama pada basa sitosin (17,8%), basa adenin (30,2%), dan basa guanin (15,3%), tetapi terdapat perbedaan pada basa timin (36,0%). Demikian pula, sampel PC2 memiliki kesamaan dengan *P. conoideus* Lam. pada basa sitosin (17,8%) dan basa guanin (15,3%), tetapi terdapat perbedaan pada basa timin (37,0%) dan basa adenin (29,9%)

Kedua sampel tersebut memiliki kandungan basa A dan T lebih tinggi dibandingkan basa C dan G, yang sesuai dengan hasil penelitian Retnaningati (2017) bahwa gen *matK* pada melon mengandung lebih banyak basa A dan T daripada basa G dan C. Tingginya kadar basa adenin (A) dan timin (T) dalam materi genetik suatu spesies dapat membawa dampak buruk. Penelitian dari Hakim *et al.*, (2023) mengungkapkan bahwa pasangan basa guanin-sitosin (GC) memiliki tiga ikatan hidrogen yang lebih kuat dibandingkan adenin-timin (AT)

yang hanya memiliki dua ikatan hidrogen. Berdasarkan analisis komposisi basa nukleotida *P. conoideus* Lam., terungkap bahwa ikatan basa AT yang dominan lebih mudah terputus, yang berpotensi meningkatkan laju mutasi pada spesies tersebut.

6. Jarak Genetik

Perbandingan jarak genetik antara sampel *P. conoideus* Lam. yang berasal dari Timika (PC1) dan Nabire (PC2), dibandingkan dengan 20 sekuens hasil BLAST dan satu *outgroup*, dilakukan menggunakan metode *neighbor joining* seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.4. Nilai jarak genetik yang semakin kecil antara dua organisme menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan di antara keduanya semakin dekat (Tallei *et al.*, 2016).

Data dari Tabel 4.4 menunjukkan bahwa jarak genetik antara PC1 dengan *Pandanus conoideus* adalah 0,0000. Sementara itu, jarak genetik sampel PC2 dengan *Pandanus conoideus* berkisar 0,0011 hingga 0,0022. Jarak genetik antara sampel PC1 dan PC2 adalah 0,0011. Jarak genetik

terbesar ditemukan antara sampel PC1 dengan *Cyclanthus bipartitus* yaitu 0,0407; dan juga antara sampel PC2 dengan *Cyclanthus bipartitus* yaitu 0,0407.

Menurut Suryadi et al. (2019), jarak genetik dikategorikan rendah jika nilainya antara 0,010-0,099; sedang jika 0,1-0,99; dan tinggi jika 1,00-2,00. Semakin kecil jarak genetik, semakin kecil pula perbedaan genetik antara individu, yang berarti hubungan kekerabatan semakin dekat. Oleh karena itu, sampel PC1 dan PC2 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan spesies *Pandanus conoideus*, sedangkan hubungan kekerabatan dengan spesies *Cyclanthus bipartitus* jauh karena spesies tersebut merupakan out group.

7. Analisis Filogenetik

Rekontruksi filogenetik dilakukan dengan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) dan perhitungan jarak evolusi menggunakan Tamura 3-parameter dengan 1000 replikasi *bootstrap* (Tamura et al., 2021). Rekontruksi filogenetik

berdasarkan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) digunakan sebagai pendekan pengelompokan bertingkat secara *bottom-up* dalam bioinformatika untuk menyusun pohon filogenetik. Metode ini mengasumsikan bahwa populasi yang diteliti memiliki laju evolusi molekuler yang konstan di mana perubahan genetik terjadi secara seragam pada semua cabang pohon (Wuriningtyas, *et al.*, 2014). Model ini digunakan berdasarkan rekomendasi aplikasi MEGA11 dalam merekonstruksi pohon filogenetik seluruh sekuens.

Hasil dari rekonstruksi pohon filogenetik tersebut menunjukkan bahwa seluruh sekuens mengelompok dalam bentuk klad. Hal ini berarti sampel yang memiliki hubungan kekerabatan dekat akan menggabung menjadi satu klad (Mirabella, 2012). Nilai *bootstrap* merupakan sebuah nilai untuk kepercayaan suatu cabang. Semakin kecil nilai *bootstrap* maka semakin rendah tingkat kepercayaan topologi hasil rekonstruksi pohon tersebut (Syahputra *et al.*, 2017). Maka nilai

bootstrap yang baik dapat dikatakan sebagai nilai yang mendekati 100.

Berdasarkan nilai *bootstrap* pada PC1 dan PC2 maka peluang terjadinya perubahan susunan pada klad sangat rendah karena memiliki nilai *bootstrap* 99%. Hanya terdapat 1 sekuens nukleotida yang berbeda di sampel PC2 berupa basa T, yang seharusnya basa A. Namun, topologi hasil rekonstruksi pohon filogenetik pada PC1 dan PC2 memiliki tingkat kepercayaan yang tinggi. Berdasarkan sekuens gen *matK* dengan kekonsistenan topologi filogenetik yang dihasilkan, penelitian ini menunjukkan bahwa sekuens *matK* memiliki peran dan memenuhi kriteria kegiatan identifikasi berbasis molekuler sebagai upaya konservasi genetik *P. conoideus* Lam. di Indonesia.

C. Keterbatasan Penelitian

Hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk studi lanjutan, dengan tujuan meningkatkan kualitas penelitian di masa mendatang. Namun, ada sejumlah keterbatasan yang perlu diperhatikan, yaitu:

1. Keterbatasan dalam pengambilan sampel secara langsung menyebabkan penelitian ini tidak menyertakan pengukuran parameter lingkungan.
2. Penelitian ini hanya menggunakan satu wilayah gen *matK* sebagai sekuens yang dianalisis.
3. Adanya keterbatasan informasi kultivar menyebabkan penulis juga terbatas dalam menyimpulkan nama kultivar buah merah.
4. Pengamatan karakter morfologi dalam penelitian ini hanya dilakukan pada organ buah.

BAB V

PENUTUP

A. Simpulan

Berdasarkan hasil analisis data, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil analisis sekuens menunjukkan bahwa sampel PC1 yang berasal dari Timika memiliki panjang 895 bp, sementara sampel PC2 dari Nabire memiliki panjang 893 bp. Komposisi basa nukleotida pada kedua kultivar memiliki komposisi basa nukleotida yang sama untuk Sitosin (C) 17,8 % dan Guanin (G) 15,3 %, sedangkan untuk sampel asal Timika memiliki komposisi basa Timin (T) 36,2 %, Adenin (A) 30,2%; untuk sampel asal Nabire memiliki komposisi basa Timin (T) 37,0 %, Adenin (A) 29,9%
2. Analisis filogenetik mengungkapkan bahwa sampel buah merah asal Timika dan Nabire merupakan spesies *P. conoideus* Lam. karena memiliki hubungan kekerabatan yang sangat erat, bahkan kemungkinan merupakan spesies yang sama dengan *P. conoideus* Lam. yang terdata di NCBI. Hal ini didukung oleh posisinya dalam satu kelompok (*clade*) utama dengan nilai *bootstrap* yang sangat

tinggi (99%) dan nilai matriks jarak genetik yang sangat rendah, berkisar antara 0,0000 hingga 0,0011.

B. Saran

Karena adanya beberapa keterbatasan dalam penelitian ini, peneliti mengajukan saran-saran berikut untuk penelitian lanjutan, yaitu:

1. Pengukuran parameter lingkungan perlu dilakukan pada setiap titik pengambilan sampel
2. Pengambilan sampel dari lebih dari dua lokasi akan menghasilkan data yang lebih akurat
3. Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan dengan metode DNA fingerprinting untuk memverifikasi kultivar buah merah, berdasarkan hasil analisis perbedaan morfologi yang diperoleh dari penelitian ini.
4. Untuk melihat variasi genetik, penelitian lanjutan mengenai identifikasi Buah Merah (*P. conoideus* Lam.) menggunakan DNA *barcoding* perlu dilakukan dengan mencoba penanda molekuler yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B., Kabes, R. J., Mawikere, N. L., Ruimassa, R. M. R., & Maturbong, R. A. (2020). DNA barcode of Metroxylon sagu and others palm species using matK gene. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9).
- Adams, J. M., Jeppesen, P. G. N., Sanger, F., & Barrell, B. G. (1969). Nucleotide sequence from the coat protein cistron of R17 bacteriophage RNA. *Nature*, 223(5210), 1009-1014.
- Alfaruqi, H. Q. D. (2021). Kajian Molekuler Pada Probiotik Asal Air Susu Ibu Dalam sintesis eksopolisakarida (EPS). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 8(1), 114-123.
- Al-Shuhaib, M. B. S., & Hashim, H. O. (2023). Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 115.
- Aman, W. P., Tethool, E. F., Sarungallo, Z. L., & Hutabalian, O. M. (2019). Penentuan Beberapa Karakteristik Fisik Dan Mekanik Buah Merah (*Pandanus conoideus* L.) Sebagai Dasar Perancangan Peralatan Pengolahan Minyak Buah Merah. *Agritechnology*, 2(1), 32-41.
- Anazawa, T., Yamazaki, M., Yamamoto, S., & Inaba, R. (2022). DNA sequencing using the RGB image sensor of a consumer digital color camera. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 353, 131047.

- Ansorge, W. J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *New biotechnology*, 25(4), 195-203.
- Antil, S., Abraham, J. S., Sripoorna, S., Maurya, S., Dagar, J., Makhija, S., ... & Toteja, R. (2023). DNA barcoding, an effective tool for species identification: a review. *Molecular biology reports*, 50(1), 761-775.
- Arif, M. F., Aristya, G. R., Subositi, D., Sari, A. N., & Kasiamdari, R. S. (2019). rbcL and matK chloroplast DNA composition of green chireta (*Andrographis paniculata*) from Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(12).
- Barta, C. E., Bolander, B., Bilby, S. R., Brown, J. H., Brown, R. N., Duryee, A. M., ... & Prawitz, R. A. (2017). In situ dark adaptation enhances the efficiency of DNA extraction from mature pin oak (*Quercus palustris*) leaves, facilitating the identification of partial sequences of the 18S rRNA and isoprene synthase (IspS) genes. *Plants*, 6(4), 52.
- Barthet, M. M., Pierpont, C. L., & Tavernier, E. K. (2020). Unraveling the role of the enigmatic MatK maturase in chloroplast group IIA intron excision. *Plant Direct*, 4(3), e00208.
- CBOL Plant Working Group (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794–12797. 10.1073/pnas.0905845106
- CBOL Plant Working Group 1, Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., ... & Little, D. P. (2009). A DNA barcode for land

- plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794-12797.
- Cuénoud, P., Savolainen, V., Chatrou, L. W., Powell, M., Grayer, R. J., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. *American Journal of Botany*, 89(1), 132-144.
- Deagle, B. E., Jarman, S. N., Coissac, E., Pompanon, F., & Taberlet, P. (2014). DNA metabarcoding and the cytochrome c oxidase subunit I marker: not a perfect match. *Biology letters*, 10(9), 20140562.
- Fauzan, A. (2015). *TUMBUH-TUMBUHAN DAN BUAH-BUAHAN DALAM AL-QURAN* (Doctoral Dissertation, UIN SUNAN KALIJAGA YOGYAKARTA).
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., ... & Barrett, S. C. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PloS one*, 3(7), e2802.
- Febriyanti, N. A. (2023). *Pengembangan Media Pembelajaran Ensiklopedia Tanaman Obat Keluarga di Desa Simbar Waringin Pada Materi Keanekaragaman Hayati Siswa Kelas X SMA* (Doctoral dissertation, IAIN Metro).
- Fišer Pečnikar, Ž., & Buzan, E. V. (2014). 20 years since the introduction of DNA barcoding: from theory to application. *Journal of applied genetics*, 55, 43-52.

- França, L. T., Carrilho, E., & Kist, T. B. (2002). A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly reviews of biophysics*, 35(2), 169-200.
- Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge university press.
- Frankham, Richard. (2019). Conservation Genetics. *Earth Systems and Environmental Sciences Encyclopedia of Ecology (Second Edition)*, 1(1), 382-390.
- Ghannam MG, Varacallo M. StatPearls. (2023). Penerbitan StatPearls; Treasure Island (FL) Biokimia, Reaksi Berantai Polimerase.
- Glick, B. R., & Patten, C. L. (2022). *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA*. John Wiley & Sons.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), pdb-top095109.
- Gummadi, S., & Kandula, V. N. (2020). A review on electrophoresis, capillary electrophoresis and hyphenations. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 11(12), 6038-6056.
- Hadad, M., Atekan, Malik, A. dan Wamaer, D., (2006), Karakteristik dan potensial tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) di Papua. *Prosiding Seminar Nasional BPTP Papua, Jayapura 24-25 Juli, 2006*, 243-255.

- Haines AM, TobeS, KobusHJ, LinacreA. (2015). Sifat pewarna pewarna asam nukleat yang digunakan dalam gel elektroforesis. *Elektroforesis* 36(6), 941–944.
- Hakim, A. A., Rahayu, E. S., Mashar, A., Butet, N. A., Wardiatno, Y., & Kamal, M. M. (2023). DNA barcoding untuk validasi spesies paus sperma (*Physeter macrocephalus* Linnaeus, 1758) dari Perairan Laut Sawu, Nusa Tenggara Timur, Indonesia. *Coastal and Ocean Journal (COJ)*, 7(1), 52-61.
- Halmschlag, C. B., Carneiro de Melo Moura, C., Brambach, F., Siregar, I. Z., & Gailing, O. (2022). Molecular and morphological survey of Lamiaceae species in converted landscapes in Sumatra. *Plos one*, 17(12), e0277749.
- Halmschlag, C. B., Carneiro de Melo Moura, C., Brambach, F., Siregar, I. Z., & Gailing, O. (2022). Molecular and morphological survey of Lamiaceae species in converted landscapes in Sumatra. *PloS one*, 17(12), e0277749.
- Harnelly, E., Thomy, Z., & Fathiya, N. I. R. (2018). Phylogenetic analysis of Dipterocarpaceae in ketambe research station, gunung leuser national park (Sumatra, Indonesia) based on rbcL and matK genes. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(3), 1074-1080.
- Hausdorf, B. (2021). A holistic perspective on species conservation. *Biological Conservation*, 264, 109375.

- Hebert PD, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. (2004) Identifikasi burung melalui barcode DNA. *Biol PLOS*; 2(10):e312.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hilu, K. W., & Liang, G. (1997). The matK gene: sequence variation and application in plant systematics. *American journal of botany*, 84(6), 830-839.
- Hilu, K. W., Alice, L. A., & Liang, H. (1999). Phylogeny of Poaceae inferred from matK sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 835-851.
- Hilu, K. W., Alice, L. A., & Liang, H. (1999). Phylogeny of Poaceae inferred from matK sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 835-851.
- Hilu, K. W., Black, C. M., & Oza, D. (2014). Impact of gene molecular evolution on phylogenetic reconstruction: a case study in the rosids (Superorder Rosanae, Angiosperms). *PLoS one*, 9(6), e99725.
- Hilu, K. W., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Savolainen, V., ... & Chatrou, L. W. (2003). Angiosperm phylogeny based on< 011> matK sequence information. *American journal of botany*, 90(12), 1758-1776.

- Ho, VT, Tran, TKP, Vu, TTT. (2021). Perbandingan kode batang DNA *matK* dan *rbcl* untuk klasifikasi genetik aksesori anggrek permata di Vietnam. *J Genet Eng Biotechnol* 19 (93).
- Holley RW, Apgar J, Everett GA, Madison JT, Marquisee M, Merrill SH, Penswick JR, Zamir A (1995) Struktur asam ribonukleat. *Science* 47(3664):1462–1465
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS one*, 6(5), e19254.
- IUCN. (2024). The IUCN Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org>. Diakses pada tanggal 4 Juni 2024 pukul 22.00 WIB.
- Jannah, M. (2020). Dna Barcode Hewan Dan Tumbuhan Indonesia.
- Johnson LA, Soltis DE (1994) MatK DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Syst Bot* 19:143–156
- Kambara, H., Nishikawa, T., Katayama, Y., & Yamaguchi, T. (1988). Optimization of parameters in a DNA sequenator using fluorescence detection. *Bio/Technology*, 6(7), 816-821.
- Kang Y, Deng Z, Zang R, Long W. (2017). Analisis kode batang DNA dan hubungan filogenetik spesies pohon di hutan awan tropis. *Rep Sains*, 7(1), 12564.

- Keim, A. P. (2007). 300 tahun Linnaeus: Pandanaceae, Linnaeus dan koneksi Swedia. *Berita Biologi*, 8(4 (a)), 37-57.
- Khaira N, Pima Sari E, Idami Z. (2024). DNA Barcoding Pada Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Menggunakan Gen trnL-F. *Best Journal (Biology Education Science & Technology)*, 7 (1), 366-372.
- Kobun, R. (Ed.). (2020). *Advanced Food Analysis Tools: Biosensors and Nanotechnology*. Academic Press.
- Koster, J. (1941). Notes on Malay Compositae. *Blumea: Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 4(3), 482-492.
- Kusuma, A. B. (2022). Optimalisasi Ekstraksi DNA Dan PCR Untuk Identifikasi Molekuler Pada 4 Jenis Karang Lunak Berbeda. *Jurnal Enggano*, 7(2), 175-182.
- Lahaye, R., Van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., ... & Savolainen, V. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8), 2923-2928.
- Li, M., Cao, H., BUT, P. P. H., & SHAW, P. C. (2011). Identification of herbal medicinal materials using DNA barcodes. *Journal of Systematics and Evolution*, 49(3), 271-283.
- Li, Y., GAO, L. M., Poudel, R. C., Li, D. Z., & Forrest, A. (2011). High universality of matK primers for barcoding gymnosperms. *Journal of systematics and evolution*, 49(3), 169-175.

- lobbii Lindl, B. (2024). EVALUASI LOKUS POTENSIAL Matk DAN ITS2 UNTUK DNA BARCODING ANGGREK *Bulbophyllum Lobbii* Lindl.
- Lorenz TC. (2012). Reaksi berantai polimerase: protokol dasar ditambah strategi pemecahan masalah dan pengoptimalan. *J Vis Exp.* (63):e3998
- Luckey, J. A., Drossman, H., Kostichka, A. J., Mead, D. A., D'Cunha, J., Norris, T. B., & Smith, L. M. (1990). High speed DNA sequencing by capillary electrophoresis. *Nucleic acids research*, 18(15), 4417-4421.
- Malik, A., & Lestari, R. H. S. (2015). Potensi Tanaman Buah Merah dan Prospek Pengembangannya di Provinsi Papua. In *Prosiding Seminar Nasional* (pp. 258-66).
- Malik, A., & Lestari, R. H. S. (2015). Potensi Tanaman Buah Merah dan Prospek Pengembangannya di Provinsi Papua. In *Prosiding Seminar Nasional* (pp. 258-66).
- Mampang, R. T., Auxtero, K. C. A., Caldito, C. J. C., Abanilla, J. M., Santos, G. A. G., & Caipang, C. M. A. (2023). DNA barcoding and its applications: a review. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 44(20), 69-78.
- Maran, P., & Siburian, R. H. (2022). Morfologi dan karakteristik tempat tumbuh tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk) di Kampung Eroma Distrik Kurima Kabupaten Yahukimo. *Cassowary*, 5(2), 112-119.
- Maran, P., & Siburian, R. H. (2022). Morfologi dan karakteristik tempat tumbuh tanaman buah merah

- (*Pandanus conoideus* Lamk) di Kampung Eroma Distrik Kurima Kabupaten Yahukimo. *Cassowary*, 5(2), 112-119.
- Maran, P., & Siburian, R. H. (2022). Morfologi dan karakteristik tempat tumbuh tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk) di Kampung Eroma Distrik Kurima Kabupaten Yahukimo. *Cassowary*, 5(2), 112-119.
- Matsuura, M., Saldanha, R., Ma, H., Wank, H., Yang, J., Mohr, G., ... & Lambowitz, A. M. (1997). A bacterial group II intron encoding reverse transcriptase, maturase, and DNA endonuclease activities: biochemical demonstration of maturase activity and insertion of new genetic information within the intron. *Genes & development*, 11(21), 2910-2924.
- Mohammad M. Mohammadi and Omid Bavi. (2022). Pengurutan DNA: gambaran umum metode berbasis nanopore biologis dan solid-state. *Biophys Rev.* 14(1): 99–110.
- Mozes, G. S. (2018). Pemanfaatan Buah Merah (*Pandanus conoideus*) sebagai Bahan Baku dalam Pembuatan Saus dan Potensinya sebagai Bahan Tambahan Pangan. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus* (Vol. 1).
- Murtiningrum, M., Sarungallo, Z. L., & Mawikere, N. L. (2012). The exploration and diversity of red fruit (*Pandanus conoideus* L.) from Papua based on its physical characteristics and chemical

composition. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 13(3).

- Nurtjahjaningsih, I. L. G., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., Haryjanto, L., Yuliah, Y., & Hadiyan, Y. (2020). Keragaman genetik *Aquilaria malaccensis* dari bangka barat provinsi kepulauan Bangka Belitung dan implikasinya untuk pengelolaan tegakan benih. *Jurnal Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan*, 14(2), 121-128.
- Olmstead, R. G., & Palmer, J. D. (1994). Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data analysis. *American journal of botany*, 81(9), 1205-1224.
- Ough Dealy, H. R., Jarvis, R. M., Young, T., Maharaj, K., & Petterson, M. (2024). The role of hope and conservation attitudes in current conservation actions and future conservation intentions. *Discover Sustainability*, 5(1), 8.
- Perwitasari, D. A. G., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., & Su'udi, M. (2020). DNA barcoding anggrek obat *Dendrobium discolor* Lindl. Tanimbar menggunakan gen *rbcl* dan ITS. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 31(1), 8-20.
- Pharmawati, M., & Rosiana, I. W. (2024). Hubungan Kekerabatan Kakatua (Psittaciformes) Berdasarkan Gen Cytochrome C Oxidase Subunit I (COI) secara In-silico. *Journal of Natural Sciences*, 5(2), 77-85.

- Policy Brief. (2022). Protecting Endangered Species. International Institute for Sustainable Development (IISD).
- Pusat Studi Biofarmaka Tropika (TropBRC). (2020). Jumlah Hutan Tropis, Jumlah Tanaman obat di Indonesia, jumlah tanaman yang berpotensi jadi tanaman obat, spesies tanaman herbal yang dijadikan obat. Bogor: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada masyarakat (LPPM) IPB University.
- Putri, E. F. S., Murdjoko, A., & Raharjo, S. (2024). Dinamika deforestasi dan degradasi hutan di Provinsi Papua. *Cassowary*, 7(2), 30-41.
- Rahayu, D. A., & Jannah, M. (2019). Dna barcode hewan dan tumbuhan Indonesia. *Jakarta: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya*, 165.
- Rahmadara, G., Hanifah, N. F., Rismayanti, R., Purwoko, D., Rochandi, A., & Tajuddin, T. (2022). Comparison of DNA isolation methods that derived from leaves of a potential anti-cancer rodent tuber (*Typhonium flagelliforme*) plant. *International Journal of Agriculture System*, 10(2), 93-103.
- Ramesh R, Munshi A, Panda SK. (1992). Reaksi berantai polimerase. *Natl Med J India*. 5 (3):115-9
- Rogers K. (2011). *New Thinking about Genetics*. New York: *Britannica Educational Publishing*, Hlm. 132. Sami A J, Awais M, Shak
- Sahu, S. K., Thangaraj, M., & Kathiresan, K. (2012). DNA extraction protocol for plants with high levels of

- secondary metabolites and polysaccharides without using liquid nitrogen and phenol. *International Scholarly Research Notices*, 2012(1), 205049.
- Saleky, D., & Merly, S. L. (2021). DNA barcoding approach to identification of *Cassidula angulifera* (Petit, 1841)(Mollusca: Gastropoda). *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 5(1), 55-64.
- Santoso, B., Murtiningrum, M., & Sarungallo, Z. L. (2016). Morfologi Buah Selama Tahap Perkembangan Buah Merah (Pandan. *Agrotek*, 2(6).
- Sarungallo, Z. L., Hariyadi, P., Andarwulan, N., & Purnomo, E. H. (2019). Keragaman karakteristik fisik buah, tanaman dan rendemen minyak dari 9 klon buah merah (*Pandanus conoideus*). *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 12(1), 70-82.
- Sarungallo, Z. L., Santoso, B., Roreng, M. K., & Latumahina, R. M. M. (2016). Nutrient content of three clones of red fruit (*Pandanus conoideus*) during the maturity development. *International Food Research Journal*, 23(3).
- Setsuko, S., Sugai, K., Tamaki, I., Takayama, K., Kato, H., & Yoshimaru, H. (2020). Genetic diversity, structure, and demography of *Pandanus boninensis* (Pandanaceae) with sea drifted seeds, endemic to the Ogasawara Islands of Japan: Comparison between young and old islands. *Molecular Ecology*, 29(6), 1050-1068.

- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi konsentrasi primer dan suhu annealing dalam mendeteksi gen leptin pada sapi peranakan ongole (PO) menggunakan polymerase chain reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36-40.
- Sisillia, L., & Kartikawati, S. M. (2024). Kajian Pemanfaatan Jenis-Jenis Pandanus (Pandanaceae) Oleh Masyarakat Desa Nanga Keruap Kabupaten Melawi. *Jurnal Hutan Lestari*, 12(1), 22-34.
- Sisillia, L., & Kartikawati, S. M. Kajian Pemanfaatan Jenis-Jenis Pandanus (Pandanaceae) Oleh Masyarakat Desa Nanga Keruap Kabupaten Melawi. *Jurnal Hutan Lestari*, 12(1), 22-34.
- Smith, L. M., Sanders, J. Z., Kaiser, R. J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, C. R., ... & Hood, L. E. (1986). Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature*, 321(6071), 674-679.
- Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1998). Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. In *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing* (pp. 1-42). Boston, MA: Springer US.
- Soni, A., Robo, S., Vernanda, V., & Wulandari, F. (2023). Sistem Pengolahan Tradisional Buah Merah Sebagai Produk Andalan Kampung Arsbol, Mamberamo Tengah, Papua Pegunungan Indonesia. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat (JPKM) TABIKPUN*, 4(3), 163-170.

- Stone, B. C. (1982). New Guinea Pandanaceae: first approach to ecology and biogeography. In *Biogeography and Ecology of New Guinea: Part One-Seven* (pp. 401-436). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Sudarmono, S. (2007). Endemic plants of serpentine soils. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(4).
- Sugiarti, S. (2023). *Karakterisasi Tingkat Ploidi Pisang Lokal Loka Pere Berdasarkan Sistem Scoring Morfologi Serta Implementasinya Sebagai Media Pembelajaran* (Doctoral Dissertation, Universitas Sulawesi Barat).
- Suharta, N., & Yatno, E. (2009). Karakteristik spodosols, kendala dan potensi penggunaannya. *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 3(1), 1-14.
- Sultan, L. D., Mileschina, D., Grewe, F., Rolle, K., Abudraham, S., Głodowicz, P., ... & Ostersetzer-Biran, O. (2016). The reverse transcriptase/RNA maturase protein MatR is required for the splicing of various group II introns in Brassicaceae mitochondria. *The Plant Cell*, 28(11), 2805-2829.
- Sumarto, S., Simbala, H. E., Koneri, R., Siahaan, R., & Siahaan, P. (2012). Biologi Konservasi.
- Sunny, A. M., Nagaraj, S. C., Patil, V. K., Hamalton, T., & Ravi, N. (2022). Standardization of extraction of DNA from silica-gel dried leaf sample of *Garcinia indica* (Thouars) Choisy. *Environmental Sciences Proceedings*, 22(1), 7.

- Suriana, S., Jamili, J., & Parakkasi, P. (2018). Karakteristik gen sitokrom C oksidase sub unit I (CO1) lebah liar Apis cerena (Hymenoptera: Apidae) asal Pulau Hoga Sulawesi Tenggara. *Jurnal Veteriner*, 19(1), 116.
- Suriana, S., Marwansyah, M., & Amirullah, A. (2019). Karakteristik segmen gen sitokrom C oksidase subunit i (COI) ngengat Plusia chalcites (Lepidoptera: Noctuidae). *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*, 6(2), 985.
- Suryadi, S., Yuniaty, A., & Susanto, A. H. (2019). Genetic diversity among three cultivars of peanut (*Arachis hypogaea* L.) based on RAPD markers. *BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 1(2), 22-30.
- Susan Maiseka, S. J., & Arisuryanti, T. (2024). KOMPOSISI NUKLEOTIDA GEN MITOKONDRIA D-LOOP IKAN GLODOK (*Periophthalmus argentilineatus* Valenciennes, 1837) DARI PANTAI BAROS BANTUL, DI YOGYAKARTA. *Berkala Ilmiah Biologi*, 15(3).
- Sutanta, M., Wulan, D. T., Nabila, Y., & Sophian, A. (2021). Application of Double Wash Technique for Species DNA Isolation in Soft Capsule Shell Samples: Application of Double Wash Technique for Species DNA Isolation in Soft Capsule Shell Samples. *Eruditio: Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 2(1), 14-19.

- Suudi, M. (2023). The matK Mini-barcode as a Potential Molecular Identification Tool for Medicinal Orchids. *Life Science and Biotechnology*, 1(1), 21-26.
- Syahrizal, H., & Jailani, M. S. (2023). Jenis-jenis penelitian dalam penelitian kuantitatif dan kualitatif. *QOSIM: Jurnal Pendidikan, Sosial & Humaniora*, 1(1), 13-23.
- Tallei, T. E. (2016). DNA barcoding analysis of matK gene of some syzygium species.
- TALLEI, T. E., & KOLONDAM, B. J. (2015). DNA barcoding of Sangihe Nutmeg (*Myristica fragrans*) using matK gene. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(1), 41-47.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Teklemariam, D. M., Gailing, O., Siregar, I. Z., Amandita, F. Y., & Moura, C. C. (2023). Integrative taxonomy using the plant core DNA barcodes in Sumatra's Burseraceae. *Ecology and Evolution*, 13(4), e9935.
- Topik, H., Yukawa, T., & Ito, M. (2005). Molecular phylogenetics of subtribe Aeridinae (Orchidaceae): insights from plastid matK and nuclear ribosomal ITS sequences. *Journal of Plant Research*, 118, 271-284.
- Tretter, E., Wang, Y., Johnson, E. M., & White, M. M. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for

Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.

- Tringe, S. G., & Hugenholtz, P. (2008). A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. *Current opinion in microbiology*, 11(5), 442-446.
- Uslan, U., & Pharmawati, M. (2015). Optimasi Konsentrasi DNA dan MgCl₂ pada Reaksi Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA untuk Analisis Keragaman Genetik Tanaman Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br)(Optimization of DNA and MgCl₂ Concentrations in Polymerase Chain Reacti. *JURNAL BIOS LOGOS*, 5(1).
- Utami, I., & Budiantoro, A. (2022). Biologi konservasi: Strategi perlindungan keanekaragaman hayati Indonesia. Yogyakarta: Bintang Semesta Media.
- Wanere, S. S., Phad, A. P., Jagtap, R. K., Rawal, S. K., Pyati, P. S., & Lomate, P. R. (2023). Cost-effective and reliable genomic DNA extraction from plant seedlings for high-throughput genotyping in seed industries. *Analytical Biochemistry*, 676, 115245.
- Watson, J. D., & Crick, F. H. C. (2007). The classic: Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 462, 3-5.
- Wawo, A. H., Lestari, P., & Setyowati, N. (2019). Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk) Bioresources Pegunungan Tengah Papua: Keanekaragaman dan Upaya Konservasinya. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(1).

- Wilson, J. J., Sing, K. W., & Jaturas, N. (2019). DNA barcoding: Bioinformatics workflows for beginners.
- Wowor, A. (2013). Pemanfaatan aplikasi GIS untuk pemetaan potensi pertanian di Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Teknik Informatika*, 2(1).
- Wuriningtyas, L. B., Pawarti, D. R., & Romdhoni, A. C. (2014). Filogenetik Human papillomavirus (HPV) tipe 6 dan tipe 11 pada penderita recurrent respiratory papillomatosis. *Oto Rhino Laryngologica Indonesiana*, 44(1), 52-62.
- Xiang, Q. Y., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1998). Phylogenetic relationships of Cornaceae and close relatives inferred from matK and rbcL sequences. *American Journal of Botany*, 85(2), 285-297.
- Yuwono, T. (2006). Teori dan aplikasi polymerase chain reaction. *Yogyakarta: andi*.
- Zallen, D. T. (2003). Despite Franklin's work, Wilkins earned his Nobel. *Nature*, 425(6953), 15-15.
- Zebua, L. I., Gunaedi, T. R. I., Budi, I. M., & Lunga, N. (2019). The DNA barcode of red fruit pandan (Pandanaceae) cultivar from Wamena, Papua Province, Indonesia based on matK gene. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(11).
- Zoschke, R., Nakamura, M., Liere, K., Sugiura, M., Börner, T., & Schmitz-Linneweber, C. (2010). An organellar maturase associates with multiple group II

introns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), 3245-3250.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Sekuensing *Pandanus conoideus* Lam. asal Timika (PC1)

>1st_BASE_5354955_1_1F

NNTAAGNANTATCGCATTTAATTATGTGTCAGATATACTAATACCTCATCC
CATCCATTTGGAAATCTTGGTGCAAACCCCTTCAATGCTGGATCCAAGATAT
TTCCTCTTTGCATTTATTGCGATTCTTCTCCATGAATATCATAATTGGAG
TAGTTTCATTACTCTGAAGAAATCTATTTACGGTTTTTCAAAAGAAAATAA
AAGACTATTTTCGATTCCATATATAATTCTTATGTATCTGAATGCGAATTTGT
ATTAGTTTTTTTTTTGTAAACAATCTTCTATTTACGATCAACATCTTCTGG
AACTTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAACATCTTAATCC
TATAGTAGTGTGTCGTAATTATTTTCTGAAGAACCCCTTGTTCTTCAAGGA
TCCTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGTTTCAAA
AGGAACTCATCTTCTGATGGAAAAATGGGGATGTCACCTTGTCAATTTCTG
GCAATATTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATTCGTATAAACCG
ATTATCAAACCATTCCTTCTATTTTCTGGGTTATCTTTAAGTCTACTAAT
AAATCCTTCGTCGGTAAGGAATCAAATGCTAGAAAAATTCATTTCTAATGGA
TACTGTTACTAAAAAATTCGATCCCATAGTCCCAATTATTCCTCTTATTGG
GTCATTGTCTAAAGCTAAGTTTTGTACCGTATCGGGGCATCCTAGTAGTAA
GCCGATCTGGACCAATTTATCAGATTCTGATATTATGATCGATTTGGTCG
CATATGTAGAAATTTTCTCATTATCACAGCGGATCCCTCAAAAAACAGAG
TTTGTATCGAATAAGGTATATACTTCACTCTTGGGGGGGCTAAAAA

>1st_BASE_5354956_1_1R

NNNNTANNCGNANCAACTCTGTTTTTTTGAGGATCCGCTGTGATAATGAGA
AAGATTTCTACATATGCGACCAAATCGATCAATAATATCAGAATCTGATAA
ATTGGTCCAGATCGGCTTACTACTAGGATGCCCCGATACGGTACAAAACCTT
AGCTTTAGACAATGACCCAATAAGAGGAATAATTGGGACTATGGGATCGAA
TTTTTTAGTAACAGTATCCATTAGAAATGAATTTTCTAGCATTTGATTCTT
TACCGACGAAGGATTTATTAGTAGACTTAAAAGATAACCCAGAAAATAGAA
GGAATGGTTTGATAATCGGTTTATACGAATCCTGTACGGTTGAGACCAAAA
GTGAAAAATAATATTGCCAGAAATTGACAAGGTGACATCCCCATTTTCCAT
CAGAAGATGAGTTCCTTTTGAAACCAGAATTGCTTTTCTTGATATCGAAC
ATAATGCATGAAAGGATCCTTGAAGAACAAAGGGTCTTCAGAAAAATAATT
ACGACACACTACTATAGGATTAAGATGTTCTATTTTCCATAGAAATGTGT
TCGTTCAAGAAAAGTTCCAGAAGATGTTGATCGTAAATAAGAAGATTGTTT
ACAAAAAAAACCTAATACAAATTCGCATTAGATACATAAGAATTATATAG
GAATCGAAATAGTCTTTTATTTTCTTTGAAAAACCGTAAATAGATTTCTT
CAGAGTAATGAACTACTCCAATTATGATATTATGAGGAAAGAATCGCAA
TAAATGCAAAGAGGAAATATCTTGGATCCAGCATTGAAGGGTTTGCACCAA

GATTTCCAAATGGATGGGATGAGGTATTAGTATATCTGACACATAATTTAA
ATGCGATAATTTGTCTCTAAAAAGGGAATATAGGGAGAANNNNNNNNNN

Lampiran 1. Hasil Sekuensing *Pandanus conoideus* Lam. asal Nabire (PC2)

>1st_BASE_5354957_4_1F

CCNNTNNNNATTATCGCATTTAATTATGTGTCAGATATACTAATACCTCA
TCCCATCCATTTGGAAATCTTGGTGCAAACCCCTTCAATGCTGGATCCAAGA
TATTTCTCTTTTGCATTTATTGCGATTCTTTCTCCATGAATATCATAATTG
GAGTAGTTTCATTACTCTGAAGAAATCTATTTACGTTTTTTCAAAAGAAAA
TAAAAGACTATTTTCGATTCTATATAATTCTTATGTATCTGAATGCGAATT
TGTATTAGTTTTTTTTTGTAAACAATCTTCTTATTTACGATCAACATCTTC
TGGAACCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAATAAGAACATCTTAA
TCCTATAGTAGTGTGTCGTAATTATTTCTGAAGAACCCCTTTGTTCTCAA
GGATCCTTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGTTTC
AAAAGGAACCTCATCTCTGATGGAAAAATGGGGATGTCACCTTGCAATTT
CTGGCAATATTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATTCTGATATAA
CCGATTATCAAACCATTCCTTCTATTTTCTGGGTTATCTTTTAAAGTCTACT
AATAAATCCTTCGTCGGTAAGGAATCAAATGCTAGAAAAATTCATTTCTAAT
GGATACTGTTACTAAAAAATTCGATCCCATAGTCCCAATTATTCCTCTTAT
TGGGTCATTGTCTAAAGCTAAGTTTTGTACCGTATCGGGGCATCCTAGTAG
TAAGCCGATCTGGACCAATTTATCAGATTCTGATATTATTGATCGATTTGG
TCGCATATGTAGAAATCTTTCTCATTATCACAGCGGATCCTCAAAAAACA
GAGTTTGTATCGAATAAGGTATATACTTCGATCTGGGGGGGGCAAAAAA
A

>1st_BASE_5354958_4_1R

NNNNNTNCGATNAACTCTGTTTTTTTGAGGATCCGCTGTGATAATGAGAA
AGATTCTACATATGCGACCAAATCGATCAATAATATCAGAATCTGATAAA
TTGGTCCAGATCGGCTTACTACTAGGATGCCCGATACGGTACAAAACCTTA
GCTTTAGACAATGACCAATAAGAGGAATAATTGGGACTATGGGATCGAAT
TTTTTAGTAACAGTATCCATTAGAAATGAATTTTCTAGCATTTGATTCCTT
ACCGACGAAGGATTTATTAGTAGACTTAAAAGATAACCCAGAAAAAGAAAG
GAATGGTTTGATAATCGGTTTATACGAATCCTGTACGGTTGAGACCAAAAG
TGAAATAATATTGCCAGAAATTGACAAGGTGACATCCCCATTTTCCATC
AGAAGATGAGTTCCTTTTGAACCAAGAATTGCTTTTCTTGATATCGAACA
TAATGCATGAAAGGATCCTTGAAGAACAAAGGGTTCTTCAGAAAAATAATTA
CGACACACTACTATAGGATTAAGATGTTCTATTTTCCATAGAAATGTGTT
CGCTCAAGAAAAGTTCCAGAAGATGTTGATCGTAAATAAGAAGATTGTTTA
CAAAAAAACTAATACAAATTCGCATTCTAGATACATAAGAATTATATAGG
AATCGAAATAGTCTTTTATTTTCTTTTGAAGAACCGTAAATAGATTCTTC
AGAGTAATGAACTACTCCAATTATGATATTCATGGAGAAAGAATCGCAAT
AAATGCAAGAGGAAATATCTTGGATCCAGCATTGAAGGGTTGCACCAAG

ATTTCCAAATGGATGGGATGAGGTATTAGTATATCTGACACATAATTTAAA
 TCGGATAATTTGTCCTCTAAAAAGGAATATAGGAATTNNNNNNNNNNNC
 C

Lampiran 2. Sekuen hasil contig *Pandanus conoideus* Lam.

>Sekuen hasil contig *P. conoideus* Lam. PC1

TTTAGAGGACAAATTATCGCATTTAAATTATGTGTCAGATATACTAATACC
 TCATCCCATCCATTTGGAAATCTTGGTGCAAACCCCTCAATGCTGGATCCA
 AGATATTTCTCTTTGCATTTATTGCGATTCTTTCTCCATGAATATCATAA
 TTGGAGTAGTTTCATTACTCTGAAGAAATCTATTTACGGTTTTTCAAAGA
 AAATAAAAGACTATTTTCGATTCCCTATATAATTCCTTATGTATCTGAATGCGA
 ATTTGTATTAGTTTTTTTTTTGTAAACAATCTTCTTATTTACGATCAACATC
 TTCTGGAACCTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAACATCT
 TAATCCTATAGTAGTGTGTCGTAATTATTTTCTGAAGAACCCCTTGTCTCT
 CAAGGATCCTTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGGT
 TTCAAAAGGAACCTCATCTTCTGATGGAAAAATGGGGATGTCACCTTGTC
 TTTCTGGCAATATTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATTCGTAT
 AAACCGATTATCAAACCATTCCTTCTATTTTCTGGGTATCTTTTAAGTCT
 ACTAATAAATCCTTCGTCGGTAAGGAATCAAATGCTAGAAAAATTCATTTCT
 AATGGATACTGTTACTAAAAAATTCGATCCCATAGTCCCAATTATTCCTCT
 TATTGGGTCAATTGTCTAAAGCTAAGTTTTGTACCGTATCGGGGCATCCTAG
 TAGTAAGCCGATCTGGACCAATTATCAGATTCTGATATTATTGATCGATT
 TGGTCGCATATGTAGAAATCTTTCTCATTATCACAGCGGATCCTCAAAAAA
 ACAGAGTTTGTATCGAATAAGGTATATA

> Sekuen hasil contig *P. conoideus* Lam. PC2

TTTTAGAGGACAAATTATCGCATTTTAATTATGTGTCAGATATACTAATAC
 CTCATCCCATCCATTTGGAAATCTTGGTGCAAACCCCTCAATGCTGGATCC
 AAGATATTTCTCTTTGCATTTATTGCGATTCTTTCTCCATGAATATCATA
 ATTGGAGTAGTTTCATTACTCTGAAGAAATCTATTTACGGTTTTTCAAAG
 AAAATAAAAGACTATTTTCGATTCCCTATATAATTCCTTATGTATCTGAATGCG
 AATTTGTATTAGTTTTTTTTTTGTAAACAATCTTCTTATTTACGATCAACAT
 CTTCTGGAACCTTTTCTTGAGCGAACACATTTCTATGGAAAAATAGAACATC
 TTAATCCTATAGTAGTGTGTCGTAATTATTTTCTGAAGAACCCCTTGTCTCT
 TCAAGGATCCTTTTCATGCATTATGTTTCGATATCAAGGAAAAGCAATTCTGG
 TTTCAAAGGAACCTCATCTTCTGATGGAAAAATGGGGATGTCACCTTGTC
 ATTTCTGGCAATATTATTTTCACTTTTGGTCTCAACCGTACAGGATTCGTA
 TAAACCGATTATCAAACCATTCCTTCTATTTTCTGGGTATCTTTTAAGTC
 TACTAATAAATCCTTCGTCGGTAAGGAATCAAATGCTAGAAAAATTCATTTT
 TAATGGATACTGTTACTAAAAAATTCGATCCCATAGTCCCAATTATTCCTC
 TTATTGGGTCAATTGTCTAAAGCTAAGTTTTGTACCGTATCGGGGCATCCTA

GTAGTAAGCCGATCTGGACCAATTTATCAGATTCTGATATTATTGATCGAT
TTGGTCGCATATGTAGAAATCTTTCTCATTATCACAGCGGATCCTCAAAAA
AACAGAGTTTGTATCGAATAAGGTAT

TABEL LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Hasil BLASTn di NCBI sampel PC1

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
1.	<i>Pandanus conoideus</i>	7
2.	<i>Pandanus tectorius</i>	8
3.	<i>Pandanus amaryllifolius</i>	3
4.	<i>Pandanus vandermeeschii</i>	1
5.	<i>Benstonea copelandii</i>	1
6.	<i>Pandanus odorifer</i>	1
7.	<i>Martellidendrom hornei</i>	1
8.	<i>Freycinetia banksii</i>	1
9.	<i>Sararanga sinuosa</i>	1
10.	<i>Freycinetia formosana</i>	1
11.	<i>Pandanus christmatensis</i>	1
12.	<i>Pandanus zea</i>	1
13.	<i>Benstonea sp.</i>	1
14.	<i>Pandanus longicaudatus</i>	1
15.	<i>Pandanus viscidus</i>	1
16.	<i>Pandanus pancheri</i>	1
17.	<i>Pandanus decumbens</i>	2
18.	<i>Pandanus peyrierasi</i>	1
19.	<i>Pandanus balansae</i>	1
20.	<i>Pandanus sp.</i>	2
21.	<i>Pandanus macrocarpus</i>	1
22.	<i>Pandanus urophyllus</i>	1
23.	<i>Pandanus microcarpus</i>	1

Lanjutan

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
24.	<i>Pandanus candelabrum</i>	1
25.	<i>Pandanus spiralis</i>	1
26.	<i>Pandanus platyphyllus</i>	1
27.	<i>Pandanus saxatilis</i>	1
28.	<i>Pandanus maximus</i>	1
29.	<i>Pandanus tsaratananensis</i>	1
30.	<i>Pandanus sambiranensis</i>	1
31.	<i>Pandanus icery</i>	1
33.	<i>Pandanus kirkii</i>	1
34.	<i>Pandanus sphaeroideus</i>	1
35.	<i>Pandanus thomensis</i>	1
36.	<i>Carludovica palmata</i>	2
37.	<i>Pandanus dubius</i>	1
38.	<i>Pandanus eydouxia</i>	1
39.	<i>Pandanus odoratissimus</i>	1
40.	<i>Pandanus pygmaeus</i>	1
41.	<i>Pandanus utilis</i>	1
42.	<i>Schultesiophytum chorientum</i>	1
43.	<i>Pandanus albifrons</i>	1
44.	<i>Pandanus joskei</i>	2
45.	<i>Pandanus basedowii</i>	1
46.	<i>Asplundia moritziana</i>	1
47.	<i>Thoracocarpus bissectus</i>	1
48.	<i>Pandanus austrosinensis</i>	2
49.	<i>Chorigyne cylindrica</i>	1

Lanjutan

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
24.	<i>Pandanus candelabrum</i>	1
25.	<i>Pandanus spiralis</i>	1
26.	<i>Pandanus platyphyllus</i>	1
27.	<i>Pandanus saxatilis</i>	1
28.	<i>Pandanus maximus</i>	1
29.	<i>Pandanus tsaratananensis</i>	1
30.	<i>Pandanus sambiranensis</i>	1
31.	<i>Pandanus icery</i>	1
33.	<i>Pandanus kirkii</i>	1
34.	<i>Pandanus sphaeroideus</i>	1
35.	<i>Pandanus thomensis</i>	1
36.	<i>Carludovica palmata</i>	2
37.	<i>Pandanus dubius</i>	1
38.	<i>Pandanus eydouxia</i>	1
39.	<i>Pandanus odoratissimus</i>	1
40.	<i>Pandanus pygmaeus</i>	1
41.	<i>Pandanus utilis</i>	1
42.	<i>Schultesiophytum chorientum</i>	1
43.	<i>Pandanus albifrons</i>	1
44.	<i>Pandanus joskei</i>	2
45.	<i>Pandanus basedowii</i>	1
46.	<i>Asplundia moritziana</i>	1
47.	<i>Thoracocarpus bissectus</i>	1
48.	<i>Pandanus austrosinensis</i>	2
49.	<i>Chorigyne cylindrica</i>	1

Lanjutan

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
50.	<i>Pandanus arapepe</i>	1
51.	<i>Pandanus alveolatus</i>	1
52.	<i>Pandanus borneensis</i>	1
53.	<i>Sphaeradenia woodsonii</i>	1
54.	<i>Cyclanthus bipartitus</i>	2
55.	<i>Pandanus dauphinensis</i>	1
56.	<i>Martellidendron kariangense</i>	1
57.	<i>Stelestylis surinamensis</i>	1
58.	<i>Pandanus altissimus</i>	2
59.	<i>Pandanus bernardi</i>	1
60.	<i>Pandanus solms-laubachii</i>	1
61.	<i>Pandanus neocaledonicus</i>	1
62.	<i>Pandanus serpentinus</i>	1
63.	<i>Pandanus bilinearis</i>	1
64.	<i>Pandanus rigidifolius</i>	1
65.	<i>Pandanus reticulatus</i>	1
66.	<i>Pandanus austrosinensis</i>	1
	Total	100

Tabel Lampiran 2. Hasil BLASTn di NCBI sampel PC2

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
1.	<i>Pandanus conoideus</i>	7
2.	<i>Pandanus tectorius</i>	9
3.	<i>Pandanus amaryllifolius</i>	3
4.	<i>Pandanus vandermeeschii</i>	2
5.	<i>Benstonea copelandii</i>	3
6.	<i>Pandanus odorifer</i>	3
7.	<i>Martellidendrom hornei</i>	1
8.	<i>Freycinetia banksii</i>	1
9.	<i>Sararanga sinuosa</i>	1
10.	<i>Freycinetia formosana</i>	1
11.	<i>Pandanus christmatensis</i>	1
12.	<i>Pandanus zea</i>	1
13.	<i>Benstonea sp.</i>	2
14.	<i>Pandanus longicaudatus</i>	1
15.	<i>Pandanus viscidus</i>	1
16.	<i>Pandanus pancheri</i>	5
17.	<i>Pandanus decumbens</i>	2
18.	<i>Pandanus peyrrierasi</i>	1
19.	<i>Pandanus balansae</i>	2
20.	<i>Pandanus sp.</i>	2
21.	<i>Pandanus macrocarpus</i>	1
22.	<i>Pandanus urophyllus</i>	1
23.	<i>Pandanus microcarpus</i>	1

Lanjutan

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
24.	<i>Pandanus candelabrum</i>	1
25.	<i>Pandanus spiralis</i>	2
26.	<i>Pandanus platyphyllus</i>	1
27.	<i>Pandanus saxatilis</i>	1
28.	<i>Pandanus maximus</i>	1
29.	<i>Pandanus tsaratananensis</i>	1
30.	<i>Pandanus sambiranensis</i>	1
31.	<i>Pandanus icery</i>	1
33.	<i>Pandanus kirkii</i>	1
34.	<i>Pandanus sphaeroideus</i>	1
35.	<i>Pandanus thomensis</i>	1
36.	<i>Carludovica palmata</i>	2
37.	<i>Pandanus dubius</i>	1
38.	<i>Pandanus eydouxia</i>	1
39.	<i>Pandanus odoratissimus</i>	1
40.	<i>Pandanus pygmaeus</i>	1
41.	<i>Pandanus utilis</i>	1
42.	<i>Schultesiophytum chorientum</i>	1
43.	<i>Pandanus albifrons</i>	1
44.	<i>Pandanus joskei</i>	2
45.	<i>Pandanus basedowii</i>	1
46.	<i>Asplundia moritziana</i>	1
47.	<i>Thoracocarpus bissectus</i>	1
48.	<i>Pandanus austrosinensis</i>	1
49.	<i>Chorigyne cylindrica</i>	1

Lanjutan

No.	Nama Ilmiah	Jumlah (Sekuen)
50.	<i>Pandanus arapepe</i>	1
51.	<i>Pandanus alveolatus</i>	1
52.	<i>Pandanus borneensis</i>	1
53.	<i>Sphaeradenia woodsonii</i>	1
54.	<i>Cyclanthus bipartitus</i>	2
55.	<i>Pandanus dauphinensis</i>	1
56.	<i>Martellidendron kariangense</i>	1
57.	<i>Stelestylis surinamensis</i>	1
58.	<i>Pandanus altissimus</i>	2
59.	<i>Pandanus bernardi</i>	1
60.	<i>Pandanus solms-laubachii</i>	1
61.	<i>Pandanus neocaledonicus</i>	2
62.	<i>Pandanus serpentinus</i>	1
63.	<i>Pandanus bilinearis</i>	1
64.	<i>Pandanus rigidifolius</i>	1
65.	<i>Pandanus reticulatus</i>	1
66.	<i>Pandanus austrosinensis</i>	1
68.	<i>Pandanus spicatus</i>	1
	Total	100

GAMBAR LAMPIRAN

Gambar Lampiran 1. Hasil aligment sekuens dua sampel, 20 sekuens hasil BLAST dan 1 *outgroup*

[illegible]

#Sample_1		GGA GTA GTT TCA TTA CTC TG- AAG AAA TCT ATT TAC GGT TTT TCA AAA GAA AAT AAA AG- -AC TAT TTC GAT TCC TAT	[234]
#Sample_2			[234]
LC491427.1:15-909 Pandanus conoideus			[234]
LC491423.1:14-908 Pandanus conoideus			[234]
LC491425.1:17-911 Pandanus conoideus			[234]
LC491426.1:19-913 Pandanus conoideus			[234]
LC491424.1:22-917 Pandanus conoideus			[234]
LC491428.1:14-907 Pandanus conoideus			[234]
NC_070105.1:1516-1412 Pandanus tectorius	A.C.T.T.AGA.CA..G..C.AAT...GG.AA..A..GG.AC..A.GGG.TC...TT.TTT..T.A..AG.A..T..AG.A.A.	[234]	
NC_070105.1:1978-2872 Pandanus amaryllifolius	A.C.T.T.AGA.CA..G..C.AAT...GG.AA..A..GG.AC..A.GGG.TC...TT.TTT..T.A..AG.A..T..AG.A.A.	[234]	
MTD046148.1:411-1305 Pandanus tectorius		[234]	
JQ435565.1:408-1302 Pandanus vandermeeschii		[234]	
LC491427.1:15-909 Pandanus conoideus			[234]
LC491423.1:14-908 Pandanus conoideus			[234]
LC491425.1:17-911 Pandanus conoideus			[234]
LC491426.1:19-913 Pandanus conoideus			[234]
LC491424.1:22-917 Pandanus conoideus			[234]
LC491428.1:14-907 Pandanus conoideus			[234]
NC_070105.1:1516-1412 Pandanus tectorius	A.C.T.T.AGA.CA..G..C.AAT...GG.AA..A..GG.AC..A.GGG.TC...TT.TTT..T.A..AG.A..T..AG.A.A.	[234]	
NC_070105.1:1981-2873 Pandanus amaryllifolius	A.C.T.T.AGA.CA..G..C.AAT...GG.AA..A..GG.AC..A.GGG.TC...TT.TTT..T.A..AG.A..T..AG.A.A.	[234]	
MTD046148.1:410-1302 Pandanus tectorius		[234]	
JQ435565.1:407-1299 Pandanus vandermeeschii		[234]	
KRT205206.1_Cyclanthus bipartitus		[234]	
#Sample_1		ATA ATT CTT ATG TAT CTG AAT CGC AAT TTG TAT TAG TTT TTT TT- ---TG TAA ACA ATC TTC TTA TTT ACG ATC AAC	[312]
#Sample_2			[312]
LC491427.1:15-909 Pandanus conoideus			[312]
LC491423.1:14-908 Pandanus conoideus			[312]
LC491425.1:17-911 Pandanus conoideus			[312]
LC491426.1:19-913 Pandanus conoideus			[312]
LC491424.1:22-917 Pandanus conoideus			[312]
LC491428.1:14-907 Pandanus conoideus			[312]
NC_070105.1:1516-1412 Pandanus tectorius	TG....T.C.TA.C..T..T.C.T.C.T.C.GGA.GGA.AG..A..A..AGTAGACT...AG..A.AC.CAGAAA..TA.GAA.GGA	[312]	
NC_070105.1:1978-2872 Pandanus amaryllifolius	TG....T.C.TA.C..T..T.C.T.C.T.C.GGA.GGA.AG..A..A..AGTAGACT...AG..A.AC.CAGAAA..TA.GAA.GGA	[312]	
MTD046148.1:411-1305 Pandanus tectorius		[312]	
JQ435565.1:408-1302 Pandanus vandermeeschii		[312]	
LC491427.1:15-909 Pandanus conoideus			[312]
LC491423.1:14-908 Pandanus conoideus			[312]
LC491425.1:17-911 Pandanus conoideus			[312]
LC491426.1:19-913 Pandanus conoideus			[312]
LC491424.1:22-917 Pandanus conoideus			[312]
LC491428.1:14-907 Pandanus conoideus			[312]
NC_070105.1:1516-1412 Pandanus tectorius	TG....T.C.TA.C..T..T.C.T.C.T.C.GGA.GGA.AG..A..A..AGTAGACT...AG..A.AC.CAGAAA..TA.GAA.GGA	[312]	
NC_070105.1:1981-2873 Pandanus amaryllifolius	TG....T.C.TA.C..T..T.C.T.C.T.C.GGA.GGA.AG..A..A..AGTAGACT...AG..A.AC.CAGAAA..TA.GAA.GGA	[312]	
MTD046148.1:410-1302 Pandanus tectorius		[312]	
JQ435565.1:407-1299 Pandanus vandermeeschii		[312]	
KRT205206.1_Cyclanthus bipartitus		[312]	

[illegible]

#Sample_1	GTT TCA AAA GGA ACT CAT CTT CTG ATG GAA AAA TGG GGA TGT CAC CTT GTC AAT TTC TGG CAA TAT TAT TTT CAC TTT	[546]
#Sample_2	...	[546]
#LC491427.1:15-909_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491423.1:14-908_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491425.1:17-911_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491426.1:19-913_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491424.1:22-917_Pandanus_conoideus	...	[546]
#ATX952418.1:14-907_Pandanus_conoideus	...CA...G...AT C...TGA AGA ACA...GT TCT...CA...AA...A...T TAC...A...CA...CA CTA T...G...A...GA...GT...C...	[546]
#AY952418.1:516-1412_Pandanus_tectorius	...CA...G...AT C...TGA AGA ACA...GT TCT...CA...AA...A...T TAC...A...CA...CA CTA T...G...A...GA...GT...C...	[546]
#NC_070105.1:1978-2872_Pandanus_amarillofiliosus	...CA...G...AT C...TGA AGA ACA...GT TCT...CA...AA...A...T TAC...A...CA...CA CTA T...G...A...GA...GT...C...	[546]
#MTD46148.1:1411-1305_Pandanus_tectorius	...C...	[546]
#JQ435565.1:408-1302_Pandanus_vandermeeschii	...C...	[546]
#LC491427.1:14-906_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491423.1:13-905_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491425.1:16-908_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491426.1:18-910_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491424.1:22-914_Pandanus_conoideus	...	[546]
#LC491428.1:13-904_Pandanus_conoideus	...	[546]
#AY952418.1:519-1413_Pandanus_tectorius	...CA...G...AT C...TGA AGA ACA...GT TCT...CA...AA...A...T TAC...A...CA...CA CTA T...G...A...GA...GT...C...	[546]
#NC_070105.1:1981-2873_Pandanus_amarillofiliosus	...CA...G...AT C...TGA AGA ACA...GT TCT...CA...AA...A...T TAC...A...CA...CA CTA T...G...A...GA...GT...C...	[546]
#MTD46148.1:1401-1302_Pandanus_tectorius	...C...	[546]
#JQ435565.1:407-1299_Pandanus_vandermeeschii	...C...	[546]
#KT205206.1_Cyclanthus_bipartitus	...C...G...	[546]
#Sample_1	TGG TCT CAA CCG TAC AGG ATT CGT ATA AAC CGA TTA TCA AAC CAT TCC TTC TAT TTT CTG GGT TAT CTT TTA AGT CTA	[624]
#Sample_2	...	[624]
#LC491427.1:15-909_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491423.1:14-908_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491425.1:17-911_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491426.1:19-913_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491424.1:22-917_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491428.1:14-907_Pandanus_conoideus	...T...C...TA...AA...T...G...C...TC...GA...AA...G...T...C...G...A...G...G...T...AT...AT...CG...AAA...TAA...AA...G...T...G...CAA...---	[624]
#ATX952418.1:516-1412_Pandanus_tectorius	...T...C...TA...AA...T...G...C...TC...GA...AA...G...T...C...G...A...G...G...T...AT...AT...CG...AAA...TAA...AA...G...T...G...CAA...---	[624]
#NC_070105.1:1978-2872_Pandanus_amarillofiliosus	ATT...T...C...TA...AA...T...G...C...TC...GA...AA...G...T...C...G...A...G...G...T...AT...AT...CG...AAA...TAA...AA...G...T...G...CAA...---	[624]
#MTD46148.1:1411-1305_Pandanus_tectorius	...	[624]
#JQ435565.1:408-1302_Pandanus_vandermeeschii	...	[624]
#LC491427.1:14-906_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491423.1:13-905_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491425.1:16-908_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491426.1:18-910_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491424.1:22-914_Pandanus_conoideus	...	[624]
#LC491428.1:13-904_Pandanus_conoideus	...	[624]
#AY952418.1:519-1413_Pandanus_tectorius	ATT...T...C...TA...AA...T...G...C...TC...GA...AA...G...T...C...G...A...G...G...T...AT...AT...CG...AAA...TAA...AA...G...T...G...CAA...---	[624]
#NC_070105.1:1981-2873_Pandanus_amarillofiliosus	ATT...T...C...TA...AA...T...G...C...TC...GA...AA...G...T...C...G...A...G...G...T...AT...AT...CG...AAA...TAA...AA...G...T...G...CAA...---	[624]
#MTD46148.1:1401-1302_Pandanus_tectorius	...	[624]
#JQ435565.1:407-1299_Pandanus_vandermeeschii	...	[624]
#KT205206.1_Cyclanthus_bipartitus	...T...A...T...C...	[624]

```
#Sample 1      CTA ATA AAT CCT TCG TCG GTA AGG AAT CAA ATG CTA GAA AAT TCA TTT CT- AAT GGA TAC TGT TAC TAA AAA ATT CGA [70
```

[illegible]

Gambar Lampiran 1. Lanjutan, Hasil aligment sekuens dua sampel, 20 sekuens hasil BLAST dan 1 *outgroup*

```

#Sampel_1      TAA GC- CGA TCT GGA CCA ATT T-- -AT CAG ATT CTG ATA TTA TTG -AT CGA TTT GGT CGC ATA TGT AGA AAT CTT TCT [858]
#Sampel_2      ... .. [858]
#LC491427.1:15-909_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491423.1:14-908_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491425.1:17-911_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491426.1:19-913_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491424.1:22-917_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491428.1:14-907_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#AY952418.1:516-1412_Pandanus_tectorius ... .. [858]
#NC_070105.1:1978-2872_Pandanus_amaryllifolius ... ATG .A. AGA ... AAT ..C .TG G.. .CA GCA T.. .AG GGT ... C.C .A. GA. TTC .AA .G GA. G.G .TG AGG .A. [858]
#MT046148.1:411-1305_Pandanus_tectorius ... .. [858]
#JQ435565.1:408-1302_Pandanus_vandermeeschii ... .. [858]
#LC491427.1:14-906_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491423.1:13-905_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491425.1:16-908_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491426.1:18-910_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491424.1:21-914_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#LC491428.1:13-904_Pandanus_conoideus ... .. [858]
#AY952418.1:519-1413_Pandanus_tectorius ... ATG .A. AGA ... AAT ..C .TG G.. .CA GCA T.. .AG GGT ... C.C .A. GA. TTC .AA .G GA. G.G .TG AGG .A. [858]
#NC_070105.1:1981-2873_Pandanus_amaryllifolius ... ATG .A. AGA ... AAT ..C .TG G.. .CA GCA T.. .AG GGT ... C.C .A. GA. TTC .AA .G GA. G.G .TG AGG .A. [858]
#MT046148.1:410-1302_Pandanus_tectorius ... .. [858]
#JQ435565.1:407-1299_Pandanus_vandermeeschii ... .. [858]
#KT205206.1_cyclanthus_bipartitus ... .. [858]

```

Gambar Lampiran 1. Lanjutan, Hasil alignmen sekuens dua sampel, 20 sekuens hasil BLAST dan 1 *outgroup*

```
#Sampel_1          CAT TAT CAC AG- CGG ATC CTC AAA AAA ACA GAG TTT GTA TCG AAT A [904]
#Sampel_2          ... ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491427.1:15-909_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491423.1:14-908_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491425.1:17-911_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491426.1:19-913_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491424.1:22-917_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491428.1:14-907_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#AY952418.1:516-1412_Pandanus_tectorius T.G ... AT. T.A .AC ..A A.T T.. .TG CG. T.A ... ..C CTC T.A . [904]
#NC_070105.1:1978-2872_Pandanus_amaryllifolius T.G ... AT. T.A .AC ..A A.T T.. .TG CG. T.A ... ..C CTC T.A . [904]
#MT046148.1:411-1305_Pandanus_tectorius .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#JQ435565.1:408-1302_Pandanus_vandermeeschii .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491427.1:14-906_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491423.1:13-905_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491425.1:16-908_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491426.1:18-910_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491424.1:21-914_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#LC491428.1:13-904_Pandanus_conoideus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#AY952418.1:519-1413_Pandanus_tectorius T.G ... AT. T.A .AC ..A A.T T.. .TG CG. T.A ... ..C CTC T.A . [904]
#NC_070105.1:1981-2873_Pandanus_amaryllifolius T.G ... AT. T.A .AC ..A A.T T.. .TG CG. T.A ... ..C CTC T.A . [904]
#MT046148.1:410-1302_Pandanus_tectorius .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#JQ435565.1:407-1299_Pandanus_vandermeeschii .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
#KT205206.1_Cyclanthus_bipartitus .. .. ..- .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. .. [904]
```

Gambar Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Keterangan: (a) Pengambilan sampel; (b) Pengukuran panjang buah; (c) Proses pemipilan buah; (d) Penimbangan *pedicel* buah; (e) Pengukuran panjang bulir dengan jangka sorong; (f) penimbangan bulir buah; (g) Proses penghancuran sampel dan isolasi DNA; (h) Proses elektroforesis sampel; (i) Proses PCR; (j) Sterilisasi alat dengan autoklaf; (k) Proses inkubasi sampel; (l) Proses homogenisasi sampel; (m) Proses sentrifugasi; (n) Proses penimbangan sampel; (o) Proses pengiriman amplikon ke 1st BASE DNA Sequencing, Malaysia; (p) Proses visualisasi hasil isolasi dan PCR.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. **Nama** : Yunita Widya Sri Utami
Lengkap
2. **TTL** : Pati, 27 Januari 2004
3. **Alamat** : Ds Sendangsoko, RT 002,
Lengkap RW 001, Jakenan, Pati
4. **No. HP** : 082137331020
5. **E-mail** : widiayunita260@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Dharma Wanita
2. SD N Sendangsoko
3. MTS Tarbiyatul Banin
4. MA Raudlatul Ulum Guyangan Trangkil Pati
5. S1 UIN Walisongo Semarang

C. Riwayat Organisasi

1. Pengurus Departemen Pendidikan dan
Penalaran HMJ Biologi UIN Walisongo
Semarang Tahun 2024