

HALAMAN JUDUL

**VERIFIKASI *Payena acuminata* (Blume) Pierre KOLEKSI
KEBUN RAYA BOGOR MELALUI PENDEKATAN
MORFOLOGI DAN MOLEKULER**

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Biologi**



**NUR IZZA NAVIDA
NIM 1908016055**

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

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Izza Navida
NIM : 1908016055
Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

VERIFIKASI *Payena acuminata* (Blume) Pierre KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR MELALUI PENDEKATAN MORFOLOGI DAN MOLEKULER

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian atau karya saya sendiri, kecuali bagian lain yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 10 April 2023
Pembuat Pernyataan



Nur Izza Navida
1908016055



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

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Verifikasi *Payena acuminata* (Blume)
Pierre Koleksi Kebun Raya Bogor Melalui
Pendekatan Morfologi dan Molekuler

Penulis : Nur Izza Navida

NIM : 1908016055

Program Studi : Biologi

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

Semarang, 18 April 2023

Dewan Penguji

Penguji I

Arnia Sari Mukaromah, M. Sc
NIP 198709112018012001

Penguji II

Prima W. K. Hutabarat, M. Sc
NIP 198501152015021001

Penguji III

Dr. Lianah, M. Sc
NIP 195903131981032007

Penguji IV

Hafidha Asni Akmalia, M. Sc
NIP 199908212019032013

Pembimbing I

Arnia Sari Mukaromah, M. Sc
NIP 198709112018012001

Pembimbing II

Prima W. K. Hutabarat, M. Sc
NIP 198501152015021001



NOTA DINAS

Semarang, 10 April 2023

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

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

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

Judul : Verifikasi *Payena acuminata* (Blume) Pierre
Koleksi Kebun Raya Bogor Melalui
Pendekatan Morfologi dan Molekuler

Nama : Nur Izza Navida

NIM : 1908016055

Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dosen Pembimbing I

Arnia Sari Mukaromah, M. Sc
NIP 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, 10 April 2023

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

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

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

Judul : Verifikasi *Payena acuminata* (Blume) Pierre
Koleksi Kebun Raya Bogor Melalui
Pendekatan Morfologi dan Molekuler
Nama : Nur Izza Navida
NIM : 1908016055
Program Studi : Biologi

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

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dosen Pembimbing II



Prima W. K. Hutabarat, M. Sc
NIP 198501152015021001

MOTTO

“Love Your Self, Because menjadi yang terbaik di mata manusia itu gaada habisnya”

ABSTRAK

Payena acuminata (Blume) Pierre merupakan salah satu spesies dari marga *Payena* yang hanya terdapat satu nomor koleksi dan satu individu di Kebun Raya Bogor. *Payena acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor memiliki karakteristik yang berbeda dengan *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) pada umumnya yang memiliki permukaan abaksial daun berwarna coklat – kuning. Hal ini berbeda dengan morfologi *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor yang memiliki permukaan abaksial berwarna putih keperakan. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan pendekatan morfologi dan pendekatan molekuler. Hasil penelitian pendekatan morfologi menunjukkan bahwa *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor memiliki karakteristik morfologi yang sama dengan *P. acuminata* var. *acuminata*, yang membedakan hanya dari warna abaksial daun putih keperakan. Hasil dendrogram menunjukkan bahwa *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor mengelompok dengan *P. acuminata* var. *acuminata*. Hasil penelitian pendekatan molekuler mendukung pendekatan morfologi, yang ditandai dengan mengelompoknya sekuen *P. acuminata* disertai nilai bootstrap tinggi pada rekonstruksi pohon filogenetik. Hasil analisis menggunakan MultAlin dan jarak genetik menunjukkan bahwa *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor memiliki sekuen yang sama dengan *P. acuminata*, diperkuat dengan hasil jarak genetik 0,000 dengan *P. acuminata*. Hasil analisis menggunakan pendekatan morfologi dan pendekatan molekuler dengan region ITS dapat memverifikasi *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor.

Kata kunci: Karakteristik, *Payena acuminata*, Verifikasi

ABSTRACT

Payena acuminata (Blume) Pierre is one of the species from the *Payena* genus, which only has one collection number and one individual in the Bogor Botanical Gardens. *Payena acuminata* Bogor Botanical Gardens collection has different characteristics from *P. acuminata* (KF686292 and HF542856) generally, which has a brown-yellow leaf abaxial surface. This differs from the morphology of *P. acuminata* in the Bogor Botanical Gardens collection, which has a silvery white abaxial surface. This study aims to verify the *P. acuminata* Bogor Botanical Garden collection using a morphological approach and a molecular approach. The results of the morphological approach showed that *P. acuminata* in the Bogor Botanical Garden collection had the same morphological characteristics as *P. acuminata* var. *acuminata*, which differed only from the abaxial color of the silvery white leaves. The dendogram results showed that *P. acuminata* in the Bogor Botanical Gardens collection was grouped with *P. acuminata* var. *acuminata*. The results of the molecular approach research support the morphological approach, which is characterized by the grouping of *P. acuminata* sequences accompanied by high bootstrap values in the phylogenetic tree reconstruction. The analysis using MultAlin and genetic distance showed that the Bogor Botanical Gardens collection of *P. acuminata* had the same sequence as *P. acuminata*, reinforced by the genetic distance of 0.000 with *P. acuminata*. The analysis results using a morphological approach and a molecular approach with the ITS region can verify *P. acuminata* in the Bogor Botanical Gardens collection.

Keywords: Characteristics, *Payena acuminata*, Verification

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan skripsi ini mengikuti pedoman transliterasi huruf arab latin SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Menteri Kebudayaan R.I. Nomor: 158 tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

أ	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		

Keterangan penulisan kata sandang (Al-) dalam teks ditulis menyesuaikan rujukan.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir berupa skripsi di tahun 2023 dengan judul **“Verifikasi *Payena acuminata* (Blume) Pierre Koleksi Kebun Raya Bogor melalui Pendekatan Morfologi dan Molekuler”**. Shalawat dan salam kita haturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang kita nantikan syafaatnya di hari kiamat nanti. Harapannya para pembaca dapat mengambil manfaat dari paparan yang ada di dalam skripsi.

Penyusunan Tugas Akhir berupa Skripsi ini tentunya tidak terlepas dari berbagai pihak yang berkontribusi dan mendukung dalam penyusunan Tugas Akhir tersebut. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Imam Taufiq, M. A. selaku Rektor UIN Walisongo;
2. Bapak Dr. H. Ismail, M. Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo;
3. Ibu Baiq Farhatul Wahidah, M. Si. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo;
4. Ibu Arnia Sari Mukaromah, M. Sc. selaku Dosen Pembimbing I dari Program Studi Biologi yang telah

- memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian dan penulisan skripsi;
5. Bapak Prima Wahyu Kusuma Hutabarat, M. Sc. selaku Dosen Pembimbing II dari Pusat Riset Biosistematika dan Evolusi - BRIN yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian dan penulisan skripsi;
 6. Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M. Si., Bapak Irfan Martiansyah, M. Si, Irvan Fadli Wanda, M. Si, dan Ibu Peni Widiyanti, M. Si. selaku peneliti BRIN yang telah memberikan saran dan masukan yang membangun penelitian lebih luas;
 7. Ibu dan Bapak dosen, pegawai dan civitas akademik UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan bantuan selama proses perkuliahan;
 8. Orang tua saya, Bapak Fauzan dan Ibu Komsatun serta ketiga saudara saya Mukhammad Alan Maulana, Misbaqul Fuad dan Qonita yang selalu memberikan dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik;
 9. Teman seperjuangan skripsi yaitu Chusnul Chotimah, Vivi Aviliani, Jauharotun Nafiisah, Amidatur Rohmaniyah, dan Lailatuz Zahro yang telah kebersamai dan memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi;

10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca dan dapat dijadikan pedoman untuk melanjutkan penelitian dalam bidang yang sama.

Semarang, 10 April 2023

Penulis

Nur Izza Navida

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
MOTTO.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
TRANSLITERASI ARAB-LATIN	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR ISTILAH	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR GAMBAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR TABEL LAMPIRAN	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	10
A. KAJIAN TEORI	10

1.	<i>Payena acuminata</i> (Blume) Pierre	10
2.	<i>DNA Barcoding</i>	15
3.	Sekuen <i>ITS (Internal Transcribed Spacer)</i>	19
4.	Hubungan Kekerbatan.....	20
5.	Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam....	23
B.	KAJIAN HASIL PENELITIAN YANG RELEVAN	25
BAB III METODE PENELITIAN		28
A.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
B.	Alat dan Bahan	28
1.	Alat.....	28
2.	Bahan.....	29
C.	Metode	29
1.	Pendekatan Morfologi	29
2.	Pendekatan Molekuler	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		42
A.	DESKRIPSI HASIL PENELITIAN	42
1.	Perbandingan Karakter Morfologi	42
2.	Verifikasi melalui Pendekatan Molekuler.....	50
B.	PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN	63
1.	Verifikasi <i>P. acuminata</i> Berdasarkan Karakter Morfologi.....	63
2.	Verifikasi <i>P. acuminata</i> melalui Pendekatan Molekuler.....	69
BAB V SIMPULAN DAN SARAN		78
A.	SIMPULAN.....	78
B.	SARAN	79

DAFTAR PUSTAKA.....	80
LAMPIRAN	92
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	108

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Karakter Morfologi <i>Payena acuminata</i> Koleksi Kebun Raya Bogor dan Herbarium	32
Tabel 4.1 Karakter Morfologi <i>P. acuminata</i>	42
Tabel 4.2 Sepuluh sekuen hasil BLAST	54
Tabel 4.3 Komposisi nukleotida 13 sekuen hasil penyejajaran menggunakan MEGA.....	58
Tabel 4.4 Jarak Genetik.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>P. acuminata</i>	13
Gambar 2.2 Sumber <i>DNA Barcoding</i>	17
Gambar 2.3 Gen <i>Internal Transcribed Spacer</i>	20
Gambar 3. 1 Peta Pengambilan Sampel	30
Gambar 4.1 Koleksi hidup Kebun Raya Bogor	49
Gambar 4.2 Dendogram karakter morfologi <i>P. acuminata</i>	50
Gambar 4.3 Hasil visualisasi elektroforesis	51
Gambar 4.4 Hasil visualisasi elektroforesis sebelum sekuensing.....	52
Gambar 4.5 Elektroforegram parsial hasil sekuensing sampel <i>P. acuminata</i>	53
Gambar 4.6 Pohon filogenetik menggunakan metode UPGMA model substitusi Kimura 2-Parameter bootstrap 1000 kali.....	55
Gambar 4.7 Hasil penyejajaran menggunakan MultAlin	57

DAFTAR ISTILAH

ISTILAH	PENJELASAN	HALAMAN
Pantropical	Pantropik, dapat hidup atau tumbuh di semua daerah tropis	1,2
Tribe	Tingkatan takson di atas genus dan di bawah suku	1,23
Calyx	Kelopak bunga	1
Imbricate	Menumpuk, tumpang tindih, bagian-bagian dari bunga yang saling tumpang tindih	1
Staminodes	Staminodium, benang sari steril	1
Distichous	Daun tampak berada dalam 2 baris yang berlawanan, semua daun adaksial menghadap ke atas	1
Brachidodromous	Tulang daun sekunder menyatu dan melengkung ke atas pada bagian tepi	1
Polifiletik	Organisme yang dikelompokkan bersama tetapi berbeda leluhur	1
Basionym	Basionim, nama asli yang menjadi dasar nama baru	5
Elliptic	Bulat panjang, bentuk daun dengan panjang terluas berada di tengah dan kedua ujung membulat	5
Ovate	Bulat telur	5
Lanceolate	Lanset	5
Acuminate	Tajam, meruncing	5
Cuneate	Runcing	5
Rounded	Membulat	5
Glabrous	Halus, Tidak berbulu, gundul	5, 6
Ovoid	Bujur telur, berbentuk telur 3 dimensi	6
Obovate	Bulat telur terbalik	6

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 4 Sekuen <i>Payena acuminata</i>	94
---	----

DAFTAR GAMBAR LAMPIRAN

Gambar Lampiran 1 Dokumentasi	92
Gambar Lampiran 2 Herbarium BO-151385	93
Gambar Lampiran 3 Enam spesimen herbarium pembanding	93

DAFTAR TABEL LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Spesimen Herbarium <i>Payena acuminata</i>	96
---	----

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sapotaceae merupakan suku *pantropical* terdiri dari 62 genus yang tersebar di daerah tropis dan sub-tropis khususnya di hutan basah dan dataran rendah seperti di Amerika Tengah, Amerika Selatan, Afrika, Madagaskar, Asia dan Kepulauan Pasifik (Pennington, 2004). Karakter kunci dari suku Sapotaceae adalah memiliki getah berwarna putih yang lengket, susunan daun berseling, bunga biseksual, ovari superior dan buah yang bisa dimakan (Timothy dan Gemma, 2015). Sapotaceae termasuk kedalam suku yang relatif sulit untuk diidentifikasi karena sangat bergantung pada karakter generatif. Berdasarkan studi filogenetik, marga di dalam suku ini polifiletik sehingga cukup sulit untuk menentukan hubungan kekerabatan yang pasti (Bartish *et al.*, 2005). *Payena* merupakan marga yang termasuk ke dalam suku Sapotaceae khususnya masuk ke dalam *tribe* Isonandreae sesuai klasifikasi menurut Hartog pada tahun 1878 (Hartog, 1878). *Payena* termasuk ke dalam marga kecil dengan jumlah spesies 16 spesies (Bruggen, 1958). Struktur morfologi kunci dari marga ini adalah adanya dua lapisan *calyx* yang bertumpuk dan dalam satu lapisan terdiri dari 2 atau 3 *calyx*, *calyx imbricate*, lobus mahkota berjumlah 2-3 kali lebih

banyak daripada jumlah *calyx*, tidak terdapat *staminode*, dan memiliki bagian hilum atau *scar seed* di bagian adaksial. *Payena acuminata* (Blume) Pierre merupakan salah satu spesies dari marga *Payena* yang hanya terdapat satu nomor koleksi dan satu individu di Kebun Raya Bogor (Ariati *et al.*, 2019). Ciri khusus yang hanya dimiliki pada *Payena acuminata* adalah memiliki permukaan abaksial daun yang tertutupi oleh rambut halus, ciri lainnya adalah ujung tulang daun sekundernya saling menyatu (*brachidodromous*) serta posisi daun *distichous* (Pennington, 1991). *Payena acuminata* memiliki berbagai manfaat seperti batangnya dapat digunakan sebagai bahan bangunan, pintu ukir dan terkadang dijadikan sebagai bahan pembuat perahu (Sutisna *et al.*, 1998), selain itu getahnya dapat dijadikan sebagai bahan pembuatan kabel bawah laut. Buah dari *Payena acuminata* dapat konsumsi baik hewan ataupun manusia.

Payena acuminata merupakan spesies *pantropical* yang memiliki persebaran di daerah hutan basah dan dataran rendah seperti di Borneo, Jawa, Malaya, Sumatra, Thailand (POWO, 2022). Menurut GBIF (2022), *Payena acuminata* yang tersebar di Pulau Jawa hanya ditemukan di tiga lokasi yaitu di Gunung Beser, Cianjur; Gunung Parang, Purwakarta dan Gunung Salak, Bogor tepatnya di Kebun Raya Bogor (koleksi ex-situ) (*Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany*,

2022). *Payena acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor memiliki karakteristik yang berbeda dengan *Payena acuminata* pada umumnya yang memiliki permukaan abaksial daun berwarna coklat – kuning (Bruggen, 1958; Lam, 1925; Pennington, 1991). Hal ini berbeda dengan morfologi *Payena acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor yang memiliki permukaan abaksial berwarna putih keperakan. Selain adanya perbedaan morfologi pada permukaan abaksial, ketiadaan karakter penciri generatif pada *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor yang berupa bunga dan buah menjadi dasar sulitnya dilakukan verifikasi hanya berdasarkan karakter morfologi sehingga perlu ditambahkan pendekatan molekuler.

Identifikasi tumbuhan di Kebun Raya Bogor secara tradisional dilakukan dengan pendekatan morfologi oleh tenaga identifikator atau peneliti. Pendekatan morfologi adalah pendekatan yang relatif mudah dan murah, namun identifikasi di level spesies melalui observasi karakter morfologi akan sulit dilakukan saat berhadapan dengan ketiadaan karakter penting seperti karakter generatif dan variasi vegetatif dan infraspesifik yang hilang akibat adaptasi dari lingkungan (Prehadi *et al.*, 2015). Identifikasi secara morfologi memiliki banyak kelemahan karena membutuhkan waktu yang lama untuk menunggu karakter generatif muncul

dan sulitnya membedakan antar spesies yang memiliki banyak kemiripan (Cahyarini *et al.*, 2004). Identifikasi secara molekuler memiliki keunggulan yaitu dapat mengidentifikasi lebih rinci, proses identifikasi lebih cepat dibandingkan dengan identifikasi secara morfologi. (Hebert *et al.*, 2003).

Identifikasi secara molekuler perlu dilakukan untuk mendukung identifikasi morfologi. Identifikasi molekuler dapat dilakukan dengan metode *DNA Barcoding* yang merupakan teknik pengidentifikasian suatu spesies menggunakan urutan gen pendek dari genom yang memiliki fungsi untuk membantu identifikasi dan verifikasi secara molekuler yang mendukung metode identifikasi dan verifikasi secara morfologi (Kress *et al.*, 2005). Penanda molekuler yang digunakan dalam proses identifikasi dan verifikasi sangat beragam seperti *Internal Transcribed Spacer (ITS)* yang bersumber dari DNA inti; *rbcl*, *ndhF*, *matK*, *atpB*, *rp116* yang bersumber dari DNA kloroplas; *CO1*, *16S-rDNA*, *Cyt-b* yang berasal dari DNA mitokondria (Rahayu dan Jannah, 2019). Penanda molekuler yang sering digunakan untuk suku Sapotaceae adalah *ITS* (Armstrong *et al.*, 2014a; Richardson *et al.*, 2014; Vivas *et al.*, 2014). Penanda molekuler *ITS* merupakan penanda yang baik untuk studi filogenetik suku Sapotaceae (Bartish *et al.*, 2005; Gonzalez *et al.*, 2008; Swenson *et al.*, 2007, 2008). Penggunaan primer

ITS kerap digunakan sebagai analisis filogenetik molekuler pada tumbuhan karena daerah *ITS* memiliki karakteristik unggul, dan banyak memiliki salinan dalam genom inti. Karakter inilah yang membuat primer *ITS* mudah untuk diamplifikasi, dan dianalisis (Darmono, 1996; Hidayat *et al.*, 2008). Hal tersebut menjadi alasan digunakannya penanda molekuler *ITS* untuk *DNA Barcoding P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor.

Pendekatan molekuler menjadi penting untuk mempermudah dan mempercepat proses verifikasi jenis *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor. Akurasi dari identitas koleksi Kebun Raya Bogor menjadi sangat penting karena koleksi kebun raya menjadi referensi dan acuan bagi penelitian sistematik dan penelitian-penelitian aplikatif lainnya. Hal ini yang mendasari dilakukannya penelitian ini untuk memverifikasi *Payena acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor dengan menggunakan sekuen *ITS* (*Internal Transcribed Spacer*). Pendekatan morfologi juga digunakan dalam verifikasi *P. acuminata* mengingat kinerja *DNA Barcoding* yang cukup rendah untuk identifikasi beberapa klad yang memiliki banyak spesies seperti suku Sapotaceae dan Lauraceae (Gonzalez *et al.*, 2009). Kombinasi antara pendekatan molekuler dan morfologi akan mendukung satu sama lain, dan mempercepat proses verifikasi *P. acuminata*.

Maka penulis melaksanakan penelitian tentang “Verifikasi *Payena acuminata* (Blume) Pierre Koleksi Kebun Raya Bogor Melalui Pendekatan Morfologi dan Molekuler”. Berdasarkan penelitian terdahulu, penggunaan sampel spesies *P. acuminata* jarang digunakan untuk penelitian, dan metode verifikasi yang menggabungkan antara pendekatan morfologi dan molekuler belum pernah digunakan untuk mendeskripsikan morfologi dan memverifikasi serta menentukan posisi *P. acuminata* dalam pohon filogenetik.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakter morfologi dan karakteristik sekuen dari *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor?
2. Apakah *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor mengalami kesalahan dalam proses identifikasi?
3. Apakah terdapat variasi karakter morfologi yang membedakan *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor dengan *P. acuminata* lainnya atau bentuk variasi dari spesies?
4. Bagaimana posisi *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor dalam pohon filogenetik berdasarkan sekuen *ITS*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengkonfirmasi karakter morfologi dan karakteristik sekuen dari *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor;
2. Memverifikasi jenis *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor;
3. Mengetahui variasi karakter morfologi yang membedakan *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor dengan *P. acuminata* lainnya atau bentuk variasi dari spesies;
4. Menentukan posisi *Payena acuminata* (Blume) Pierre koleksi Kebun Raya Bogor dalam pohon filogenetik berdasarkan penggunaan sekuen *ITS*.

D. Manfaat Penelitian

Dengan diadakannya penelitian ini diharapkan dapat memberikan beberapa manfaat antara lain:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam bentuk studi literatur sekaligus menjadi tambahan referensi dalam bidang molekuler dan morfologi mengenai *Payena acuminata* bagi penelitian selanjutnya.

2. Manfaat Praktis
 - a. Bagi penulis
 1. Sebagai bentuk sarana yang bermanfaat dalam mengimplementasikan ilmu dan keterampilan mengenai identifikasi masalah dan verifikasi tumbuhan.
 2. Penelitian ini dapat menyalurkan ilmu pengetahuan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.
 3. Serta penelitian ini dapat menambah wawasan ilmu yang berkaitan dengan karakter morfologi dan molekuler *Payena acuminata*.
 - b. Bagi masyarakat
 1. Penelitian ini bermanfaat dalam konfirmasi spesies *Payena acuminata* agar tidak terjadi kesalahan dalam identifikasi.
 2. Memberikan informasi mengenai cara pengidentifikasian spesies secara cepat.
 3. Memberikan informasi mengenai karakter morfologi *Payena acuminata*.
 - c. Bagi institusi kampus UIN Walisongo Semarang
 1. Penelitian ini bermanfaat dalam kontribusi pencapaian Visi Misi menjadi Universitas Islam riset terdepan berbasis kesatuan ilmu pengetahuan.
 2. Penelitian ini bermanfaat dalam kontribusi untuk menambah referensi di perpustakaan UIN Walisongo.

3. Penelitian ini bermanfaat dalam menyalurkan pengalaman penelitian kepada mahasiswa Biologi UIN Walisongo.
 4. Penelitian ini bermanfaat dalam upaya konservasi lingkungan.
- d. Bagi Kebun Raya Bogor
1. Penelitian ini bermanfaat dalam mendukung proses identifikasi yang benar.
 2. Penelitian ini membantu menyediakan data molekuler jenis *Payena acuminata* di Kebun Raya Bogor.
 3. Penelitian ini bermanfaat untuk mendapatkan informasi dari penulis mengenai koleksi melalui pendekatan morfologi dan molekuler *Payena acuminata*.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. KAJIAN TEORI

1. *Payena acuminata* (Blume) Pierre

a. Klasifikasi

Payena acuminata (Blume) Pierre merupakan spesies yang termasuk ke dalam marga *Payena* dari suku Sapotaceae, yang memiliki *basionym* *Mimusops acuminata* Blume dan memiliki nama lokal Natu, Nyatoh Merah, Nyatoh Rian (GBIF, 2022). Berdasarkan Bruggen van (1958) *Payena acuminata* memiliki nama lokal (Sumatra) Balam Durian, Balam Suntek, Balam Timah, Geneng, Genong, Kaju Kentan, Ontan, Mahang Bulan, Majang Damanik, Majam Lisak, Njatuh Balam, Punt, Simartarung. Nama lokal *P. acuminata* dari Jawa yaitu Djenggot, Djenkot, Getta, Kellau, Ki, Kituwah, Matak Rasberassan Santenan, Tandjungan, Taun, Tendjang. Nama lokal di Borneo adalah Baitis, Manatu, Matu, Monongan Najah, Natu, Nyatoh, Nyatoh Merah, Nyatoh Laka, Sendi, Tinkawang Lilin.

Klasifikasi *Payena acuminata* berdasarkan Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (2022) yaitu:

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Ericales
Famili : Sapotaceae
Genus : *Payena*
Spesies : *Payena acuminata* (Blume) Pierre

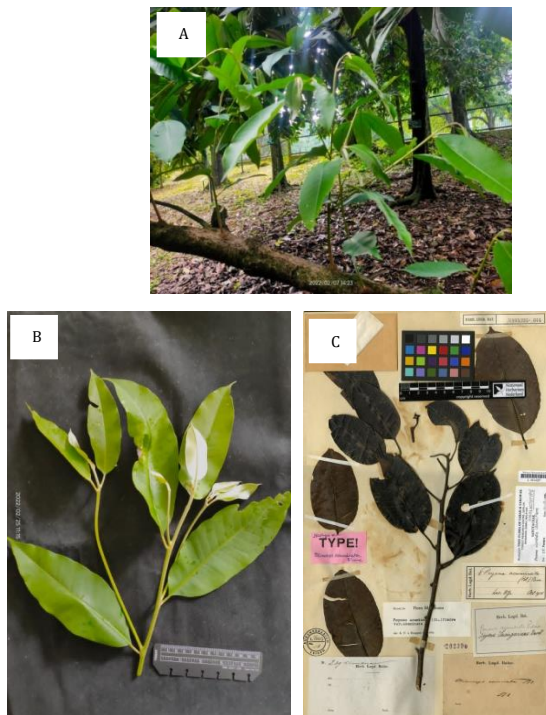
Menurut Van Bruggen (1958) *Payena acuminata* yang berada di Kalimantan terbagi menjadi dua varietas yaitu var. *acuminata* dan var. *pulchra*. Kedua varietas ini cukup sulit dibedakan karena tidak ada karakter yang stabil untuk mewakili dua kelompok yang berbeda (Pereira, 1997).

b. Morfologi

Payena acuminata merupakan pohon berukuran besar yang dapat tumbuh mencapai tinggi 42 m dengan diameter 0,92 m (Bruggen, 1958). Bentuk daun *P. acuminata elliptic* hingga *ovate* sedangkan bentuk daun mudanya *lanceolate* dengan ujung daun *P. acuminata* dan pangkal daunnya *cuneate* sampai *rounded* serta lebih ramping kecil yang terlihat pada Gambar 2.1 bagian A dan B. *Payena acuminata* var. *acuminata* memiliki karakter pangkal daun lebih ramping, bentuk daunnya *eliptic*, panjang daun 6,5 – 24

cm, lebar daunnya 2,8 – 8,7 cm, memiliki panjang petiol 1-2,8 cm, tulang daun sekundernya sangat tipis dan tidak menonjol, jumlah tulang daun sekunder 14-17 dengan panjang *pedicel* 0,7-1,3 cm. Karakteristik *Payena acuminata* var. *pulchra* yaitu pangkal daunnya melebar dengan tepi bagian bawah menyempit, bentuk daunnya runcing, panjang daunnya 11-22 cm, lebar daunnya 9-14,5 cm panjang petiolnya 1,5-2 cm, tulang daun sekunder tajam menonjol, jumlah tulang daun sekunder 14-24 dan panjang *pedicel* 0,4-1,4 cm (Lam, 1925). Menurut Pereira (1997) *Payena acuminata* var. *acuminata* memiliki urat daun lateral agak tebal menonjol dan tipis pada bagian abaksial. Lebar daun sekitar 4-7 cm lebih kecil dibandingkan dengan *P. acuminata* var. *pulchra*. Permukaan adaksial licin (*glabrous*) sedangkan permukaan abaksial berambut yang berwarna coklat kemerahan (Bruggen, 1958), kuning keemasan atau putih keperakan (Backer dan Van Den Brink, 1965). Karakter yang khas dari *P. acuminata* adalah susunan daunnya berseling dan posisi daunnya bagian adaksial menghadap ke atas sedangkan bagian abaksial menghadap ke bawah disebut dengan *distichous* (Chantaranothai, 1967). Gambaran morfologi *P. acuminata* berdasarkan herbarium dari spesimen tipe koleksi *Naturalis Biodiversity Centre, formerly Leiden University* (L), L061427 disajikan pada Gambar 2.1.

bagian C. Bunga *P. acuminata* muncul di ketiak daun atau bekas daun (*scar leaf*) yang berjumlah 4-8 bunga dengan panjang sepal 5-6,5 mm dan panjang tangkai bunga 1-1,2 cm. Buah berbentuk *ovoid* sampai *obovate* yang ketika masih muda memiliki rambut halus, terdapat 1-2 biji di dalamnya. Biji *P. acuminata* cukup besar dan memiliki bagian kasar yang cukup luas (Bruggen, 1958).



Gambar 2.1 *Payena acuminata*. A) Habitus, B) Spesimen basah (dokumentasi pribadi, 2022) C) Spesimen herbarium tipe (Jstore, 2022)

c. Persebaran

Payena acuminata tersebar luas pada daerah Sumatra, Malaysia Barat, Riau, Simalur, Borneo, Jawa dan bahkan sampai ke Filipina (POWO, 2022). Dari persebaran yang cukup meluas membuat *Payena acuminata* termasuk ke dalam kondisi stabil, hal ini sesuai dengan pernyataan dari IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*). Jika dilihat status IUCN *Payena acuminata* menunjukkan status *Least Concern* (LC) yang memiliki tingkat resiko yang rendah (IUCN, 2022). Spesies ini dapat dikatakan *Least Concern* apabila suatu ekosistem yang sudah dievaluasi berdasarkan kriteria risiko kepunahan menunjukkan hasil tidak memenuhi salah satu syarat sebagai kategori kritis (*Critically endangered*), genting (*endangered*), rentan (*vulnerable*), maupun hampir terancam (*near threatened*).

d. Manfaat

Payena acuminata memiliki berbagai manfaat seperti batangnya dapat digunakan sebagai bahan bangunan karena memiliki kayu yang berat dan berkualitas tinggi, yang cocok untuk konstruksi rumah yang tidak langsung mengenai tanah, pintu ukir dan terkadang dijadikan sebagai bahan pembuat perahu (Sutisna *et al.*, 1998), selain itu getah yang dihasilkan dapat dijadikan sebagai bahan pembuatan kabel

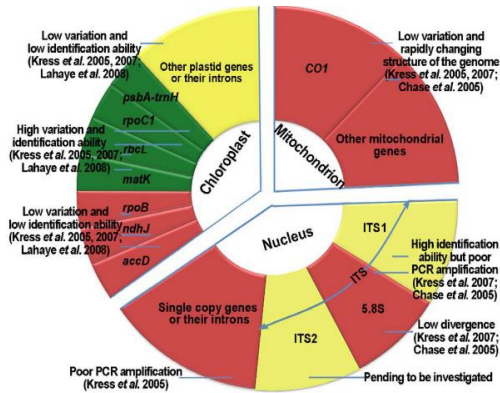
bawah laut sebelum ditemukannya plastik. Hampir semua spesies dari suku Sapotaceae ini memiliki buah yang dapat dimakan seperti buah dari spesies *Payena acuminata* (Bruggen, 1958).

2. *DNA Barcoding*

DNA Barcoding merupakan metode pengidentifikasian suatu spesies menggunakan urutan gen pendek dan genom, metode ini berfungsi untuk membantu identifikasi secara molekuler yang mendukung metode identifikasi secara morfologi (Kress *et al.*, 2005). Adanya *DNA Barcoding* ini sangat membantu para ahli taksonomi untuk melakukan identifikasi secara cepat dan akurat dengan memanfaatkan sekuen DNA karena sekuen yang digunakan merupakan sekuen yang pendek dan unik, biasanya panjang sekuen DNA yang dipakai sekitar 600-900 bp. *DNA Barcoding* pertama kali dikemukakan oleh Hebert seorang ahli biologi yang berhasil mengidentifikasi serta mendefinisasi spesies menggunakan sekuen gen pendek non-nuklear *CO1* pada hewan di tahun 2003 (Hebert *et al.*, 2003). Adapun kegunaan *DNA Barcoding* yaitu identifikasi spesies yang kompleks, untuk memonitoring keragaman hayati, *food safety*, autentikasi tanaman obat. Namun demikian *DNA Barcoding* memiliki beberapa kekurangan yaitu spesimen identifikasi yang ambigu, tidak adanya *platform* untuk analisis data standar,

resolusi cukup rendah dari beberapa klad karena penangkapan kloroplas dan peristiwa hibridisasi. Dalam bidang botani *DNA Barcoding* digunakan untuk mengidentifikasi dan verifikasi jenis, analisis kekerabatan antar jenis, determinasi kompleks jenis dan filogeografi.

Penanda molekuler yang sering digunakan dalam proses identifikasi tumbuhan sangat beragam karena belum memiliki penanda universal sedangkan penanda molekuler pada hewan sudah memiliki penanda molekuler yaitu *Cytochrome Oxidase sub unit1 (CO1)* (Kochzius *et al.*, 2010). Penanda molekuler *Internal Transcribed Spacer (ITS)* merupakan penanda molekuler yang direkomendasikan untuk proses identifikasi karena berasal dari DNA inti. Adapun beberapa penanda molekuler yang sering digunakan dalam proses identifikasi dapat berasal dari DNA inti, DNA kloroplas dan DNA mitokondria. Sumber *DNA Barcoding* dapat dilihat pada Gambar 2.2. Penanda molekuler tumbuhan yang berasal dari DNA inti yaitu *ITS1*, *ITS2*. Penanda molekuler yang berasal dari DNA kloroplas yaitu *ribulosa-1,5-bifosfat karboksilase Large subunit (rbcL)*, *ndhF*, *Maturase K (matK)*, *atpB*, *rp116*. Penanda molekuler tumbuhan yang berasal dari DNA mitokondria yaitu 16S-rDNA, dan *Cytochrome b (Cyt-b)* (Rahayu dan Jannah, 2019).



Gambar 2.2 Sumber *DNA Barcoding* (Chen et al., 2010)

DNA Barcoding merupakan teknik identifikasi menggunakan sekuen pendek yang tahapannya meliputi:

1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan metode untuk memisahkan DNA dengan makromolekul seperti lipid, atau protein. Tahapan dalam ekstraksi DNA yaitu ada tiga, perusakan dinding sel (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa, protein dan pemurnian DNA (Chi et al., 2009). Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, seperti metode konvensional maupun metode modern yang menggunakan *kit*. Metode ekstraksi DNA secara konvensional dapat dilakukan dengan metode CTAB (*Cetyl Trimethylammonium Bromide*), SDS (*Sodium Dodecyl Sulfat*), dan metode fenol atau kloroform. Sedangkan metode ekstraksi DNA secara modern dapat menggunakan

berbagai macam *kit* seperti *kit* TianGen, GeneJet, Geneaid dan lain-lain (Fitriya *et al.*, 2015).

2. Amplifikasi menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Prinsip dari PCR ini adalah untai ganda DNA akan dipisahkan melalui proses denaturasi kemudian didinginkan hingga mencapai suhu tertentu untuk memberikan waktu pada primer untuk menempel pada daerah sekuen target. Kemudian DNA *polymerase* akan memperpanjang primer sehingga DNA target akan meningkat secara eksponensial dan DNA non-target akan meningkat secara linear (Newton dan Graham., 1994).

3. Sekuensing

Sekuensing merupakan pengurutan nukleotida pada suatu segmen molekul DNA. Pengurutan segmen DNA akan menghasilkan kode genetik dari molekul DNA yang selanjutnya dibandingkan dengan sekuen DNA lain. Metode sekuensing yang pertama kali dikenal adalah metode Sanger (Sanger *et al.*, 1997) selain itu terdapat metode NGS (*Next Generation Sequencing*) merupakan metode sekuensing yang menghasilkan data sekuen lebih cepat dibandingkan dengan metode Sanger.

4. Analisis Data Sekuensing

Hasil sekuensing dibandingkan dengan *database* yang ada dengan cara mensejajarkan dan menyambung sekuen fragmen DNA berdasarkan bagian sekuen yang tumpang tindih menggunakan aplikasi berupa MEGA atau BLAST (Sunaryo, 2015).

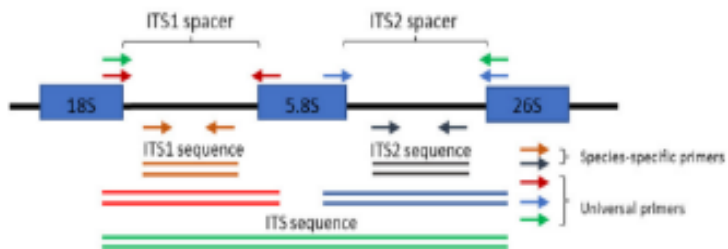
3. Sekuen *ITS (Internal Transcribed Spacer)*

Primer *ITS (Internal Transcribed Spacer)* merupakan primer yang memiliki wilayah bervariasi dari gen RNA ribosomal yang sangat membantu dalam studi molekuler pada tingkat spesifik dan terkadang intraspesifik. Primer *ITS* terletak diantara gen RNA ribosomal 18S dan RNA ribosomal 26S seperti yang tersaji dalam Gambar 2.3. *ITS* terbagi menjadi 2 yaitu *ITS 1* dan *ITS 2* dengan masing-masing terdiri dari gen RNA ribosom 18S, *ITS-I*, gen 5.8S rRNA, *ITS-2*, dan gen rRNA 26S, dipisahkan oleh *spacer intergenik nontranskrips (IGS)* (Orhan, 2021). IGS dikatakan sering lebih bervariasi daripada *ITS-1* dan *ITS-2* (Shaw *et al.*, 2002).

Primer *ITS* mengkode daerah *non-coding* yang dimana memiliki tingkat mutasi yang tinggi sehingga cukup akurat untuk membandingkan interspesies dan intraspesies. Selain itu daerah *non-coding* sangat bervariasi dan memiliki potensi besar untuk mempelajari hubungan antara genera atau spesies yang terkait erat karena laju evolusi yang lebih cepat

(Chen *et al.*, 2010) hal ini yang menjadi alasan primer *ITS* digunakan.

Penggunaan primer *ITS* untuk suku Sapotaceae baik digunakan untuk *DNA Barcoding* sesuai dengan publikasi (Armstrong *et al.*, 2014a) yang berhasil membuat pohon filogenetik yang baik pada tingkat spesies. Selain itu penggunaan primer *ITS* kerap digunakan sebagai analisis filogenetik molekuler pada tumbuhan karena daerah *ITS* memiliki karakteristik unggul, dan banyak memiliki salinan dalam genom inti. Karakter tersebut yang membuat primer *ITS* mudah untuk diamplifikasi, dan dianalisis (Darmono, 1996; Hidayat *et al.*, 2008).



Gambar 2.3 Gen *Internal Transcribed Spacer (ITS)* (Orhan, 2021)

4. Hubungan Kekerbatan

Hubungan kekerabatan berdasarkan jenis datanya dibedakan menjadi dua yaitu kekerabatan fenetik dan kekerabatan filetik (filogenetik). Hubungan kekerabatan fenetik merupakan hubungan kekerabatan yang berdasarkan

pada persamaan sifat yang dimiliki sekelompok tumbuhan tanpa melihat sejarah keturunannya. Sedangkan hubungan kekerabatan filetik merupakan hubungan kekerabatan yang berdasarkan laju evolusi pada sekelompok tumbuhan sebagai acuan utama (Stuessy, 1990). Menurut Tjitrosoepomo (2009) hubungan kekerabatan filogenetik dapat dilihat dari genetiknya atau susunan dari DNA. Hubungan kekerabatan fenetik tidak hanya dilihat dari sifat yang dimiliki atau ciri morfologi yang dapat dilihat secara langsung tetapi dilihat dari segi anatomi, fitokimia, dan embriologi (Hardiyanto *et al.*, 2007). Hubungan kekerabatan antara spesies satu dengan spesies lainnya yang digambarkan dengan filogram dapat dilakukan dengan cara metode analisis filogenetik (Hidayat *et al.*, 2008). Analisis filogenetik merupakan metode yang mengkombinasikan antara pendekatan molekuler dan pendekatan morfologi. Konsep dasar dari filogenetik yaitu semua organisme yang ada memiliki hubungan kekerabatan antara satu organisme dengan organisme lainnya dan memiliki satu nenek moyang (*common ancestor*) yang sama. Organisme dianggap memiliki hubungan kekerabatan apabila mempunyai sifat atau karakter yang sama (Hidayat dan Pancoro, 2016).

Dasar terminologi untuk mendefinisikan karakter yang membedakan antar spesies terbagi tiga yaitu *synapomorphy*

(seluruh anggota akan membentuk klad yang sama jika memiliki karakter yang sama), *apomorphy* (karakter yang mengalami perubahan secara individu dan masuk ke dalam klad grup), dan *plesiomorphy* (karakter primitif)(Hidayat *et al.*, 2008). Rekonstruksi pohon filogenetik membutuhkan outgroup yang memiliki karakter *plesiomorphy* dan *apomorphy* sehingga menghasilkan pohon berakar (*rooted tree*) untuk memperjelas batasan (Hidayat dan Pancoro, 2016).

Menurut Cavalli dan Balfourier (1997) analisis filogenetik dapat dilakukan dengan tiga tahap yaitu: (1) *alignment*, (2) rekonstruksi pohon filogenetik dan (3) uji statistik untuk evaluasi pohon filogenetik. Rekonstruksi pohon filogenetik dapat digolongkan menjadi dua yaitu *distance based method* dan *character based method*. Rekonstruksi pohon filogenetik berbasis distance based yaitu *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) (Sneath dan Sokal, 1973), *Neighbor-Joining* (NJ) (Saitou dan Nei, 1987), dan *Fitch-Margoliash* (Fitch dan Margoliash, 1967). Metode rekonstruksi pohon filogenetik yang menggunakan *character base* yaitu *Maximum parsimony* (MP), *Maximum likelihood* (ML) (Lemey *et al.*, 2009) dan *Bayesian Inference* (Septiadi, 2019).

5. Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan makhluk hidup yang dapat menghasilkan makan atau disebut juga sebagai produsen. Manusia memerlukan tumbuhan untuk bertahan hidup karena memiliki tumbuhan memiliki berbagai manfaat. Berbagai manfaat tumbuhan bagi manusia sudah tercantum dalam Al-quran 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
مُتَشَابِهٍ أَنْظَرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ
يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (QS. Al-An'am ayat 99) (Qur'an Kemenag. 2022)

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air sehingga tumbuh berbagai tumbuhan hijau

yang beraneka ragam jenis, dan rasa sebagai bentuk kekuasaan Allah (Al-Jazairi dan Jabir, 2007). Kemudian dijelaskan juga dari tumbuhan itu mengeluarkan buah seperti buah dari suku Sapotaceae yang hampir semua buah dari Sapotaceae dapat dimakan. Setiap bagian dari tumbuhan memiliki banyak manfaat bagi manusia yang bisa diteliti dalam kehidupan dan banyak hal yang dapat dipelajari untuk lebih mengetahui akan keajaiban yang terkandung dalam bagian tersebut (Imani, 2005). Islam memiliki pandangan yang cukup khas tentang hubungan manusia dan alam. Hal inilah yang menjadi dasar peradaban Islam salah satunya pemanfaatan dan konservasi lingkungan (Sabiq, 2013).

B. KAJIAN HASIL PENELITIAN YANG RELEVAN

Beberapa penelitian terdahulu yang relevan dengan penelitian ini diantaranya yaitu:

1. Penelitian yang pernah dilakukan oleh Richardson *et al.*, (2014) dengan judul penelitian "*The Influence Of Tectonics, Sea-Level Changes And Dispersal On Migration And Diversification Of Isonandreae (Sapotaceae)*". Penelitian ini menjelaskan bahwa region *ITS* digunakan untuk menentukan pola penyebaran suku Sapotaceae khususnya *tribe* Isonandreae di seluruh wilayah Malesia dengan cara merekonstruksi menggunakan metode Bayesian dan *Maximum Parsimony* (MP). Salah satu spesies yang berhasil direkonstruksi menggunakan region *ITS* adalah *Payena acuminata*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan region *ITS* berhasil untuk merekonstruksi pohon filogenetik spesies dari Isonandreae.
2. Penelitian penggunaan region *ITS* juga dilakukan oleh Vivas *et al.*, (2014) dengan judul "*DNA Barcoding In Atlantic Forest Plants: What Is The Best Marker For Sapotaceae Species Identification?*" yang meneliti tentang penggunaan berbagai region untuk identifikasi suku Sapotaceae. Dalam penelitian tersebut diketahui bahwa penggunaan region *ITS* paling baik untuk mengidentifikasi

spesies dari suku Sapotaceae dibandingkan dengan region lainnya. Untuk diskriminasi spesies, *ITS* memberikan hasil terbaik, disusul *matK*, *trnH-psbA* dan *rbcl*.

3. Penelitian yang dilakukan oleh Armstrong *et al.*, (2014) dengan judul "*Patterns of Diversification Amongst Tropical Regions Compared: A Case Study in Sapotaceae*". Penelitian ini menjelaskan bahwa *DNA Barcoding* dapat menentukan hubungan filogenetik dari dua marga endemik Madagascar yang belum jelas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rekonstruksi pohon filogenetik dapat menggunakan *ITS* dan *psbA-trnH* sehingga menghasilkan topologi pohon yang sama dari subsuku Sopotioideae.
4. Penelitian yang dilakukan oleh De Faria *et al.*, (2017) dengan judul "*Towards a Natural Classification of Sapotaceae Subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics*". Penelitian ini menjelaskan bahwa pendekatan molekuler menggunakan sekuen *eksternal dan internal transcribed spacer* dan pendekatan morfologi yang dianalisis dengan inferensi Bayesian dan Jackknifing parsimony dapat menentukan batasan genetik dari Chrysophyllum dan Pouteria.
5. Penelitian yang dilakukan oleh Algarni (2022) dengan judul "*Molecular Identification and Phylogenetic Analysis of*

Aloe shadensis From Saudi Arabia Based on *matK*, *rbcl* and *ITS* DNA Barcode Sequence". Penelitian ini menjelaskan bahwa pendekatan yang paling tepat untuk mengidentifikasi tanaman langka *Aloe shadeensis* menggunakan pengurutan beberapa penanda genomik seperti *matK*, *rbcl*, dan *ITS*. Hasil penelitian menjelaskan bahwa penggunaan sekuen *matK* dan *ITS* dapat mengidentifikasi *Aloe shadeensis* dengan baik dibandingkan dengan sekuen *rbcl*.

Penelitian terkait dengan identifikasi Sapotaceae pernah dilakukan oleh (Armstrong *et al.*, 2014; Richardson *et al.*, 2014 dan Vivas *et al.*, 2014). Keterbaruan penelitian ini dari artikel tersebut adalah tidak dilakukannya identifikasi secara pendekatan morfologi dan molekuler. Penelitian yang khusus membahas mengenai *Payena acuminata* belum pernah dilakukan serta belum ada penelitian yang membahas mengenai perbedaan abaksial daun dari *Payena acuminata* khususnya pada bagian trikomananya. Berdasarkan penelitian terdahulu perlu dilakukan varifikasi *Payena acuminata* melalui pendekatan morfologi dan molekuler

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Treub Kebun Raya Bogor khususnya pada Bagian Laboratorium Molekuler Genetika Konservasi pada bulan Januari-Februari 2022. Penelitian dilanjutkan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang dan Laboratorium Biosistemika Herbarium Bogoriense pada bulan Oktober 2022-Maret 2023.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya mortar, *pestle*, erlenmayer (Iwaki), gelas beker (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), cetakan dan sisir gel elektroforesis, elektroforesis (Mupid dan Nyxtechnik), *thermal cycler* (Takara), *sentrifuge* (Spectrafuge 24D- Labnet), *spindown* (EMS-myfuge), *vortex* (VWR-Digital Vortex Digital), *heatblock* (VWR-DIigital Heatblock), *microwave* (Sharp), mikropipet (Eppendorf) [biru (100-1000 μ l), kuning (10-100 μ l), putih (0,5-2 μ l), abu-abu (1-10 μ l)], *GelDoc* (BIO-RED EZ imager), kulkas (LG), *freezer* (LG), *UV Tray*, spatula, neraca analitik (Precisa), gunting, gunting dahan, galah, kamera (Realme 5 Pro), penggaris.

2. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan meliputi sampel herbarium dan DNA *Payena acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor (IV.C.78), pasir kuarsa, *Plant Genomic DNA kit* Tiangen (DP304-03), PCR Mix (2x Mytaq HS Red Mix) *nuclease free water* (ddH₂O) (Promega), kloroform, gel *agarose* (Thermoscientific), larutan *Tris Acetate EDTA* (TAE 1X) (Ultra Pure Grade), *Gel Red Nucleic Acid Stain* (Biotium), primer *rbcl Forward* (5' - ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC - 3'), primer *rbcl Reverse* (5' - GTA AAA TCA AGT CCA CC RCG - 3') (CBOL, 2009), primer *ITS Forward* (17SE 5' - ACG AAT TCA TTG TCC GGT GGA GTG TTC G - 3'), primer *ITS Reverse* (26SE 5' - TAG AAT TCC CCG GTT CGC TCG CCG TTA C - 3')(Sun *et al.*, 1994), *Taq polymerase*, marker (Thermoscientific SM0311 1kb DNA ladder), label gantung, *silica gel*, *teabag*, plastik ukuran 40x60, dan alumunium foil.

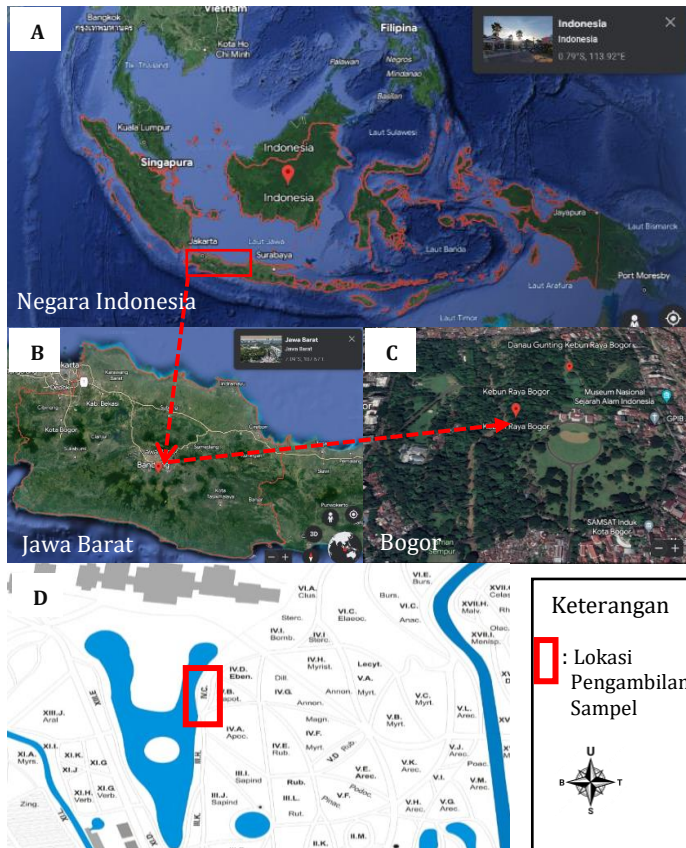
C. Metode

1. Pendekatan Morfologi

a) Pengambilan Sampel

Sampel *P. acuminata* diambil dari koleksi tumbuhan di vak IV.C.78 Kebun Raya Bogor yang dapat dilihat pada Gambar 3.1. Sampel yang diambil bagian cabang batang yang bersih dan terhindar dari hama. Sampel yang diambil

akan dijadikan dua bagian yaitu untuk pembuatan herbarium dan untuk ekstraksi DNA. Sampel yang dijadikan ekstraksi DNA yaitu daun dengan urutan ketiga atau keempat dari pucuk daun. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label sesuai kode pohon.



Gambar 3. 1 Peta Pengambilan Sampel. A (Indonesia); B (Jawa Barat); C (Bogor); D (Kebun Raya Bogor)(Ariati *et al.*, 2019)

b) Pengamatan Morfologi

Pengamatan karakter morfologi dilakukan di Laboratorium Biosistemika Tumbuhan di Herbarium Bogoriense (BO). Pengamatan awal dilakukan pada semua spesimen herbarium *P. acuminata* di BO untuk mempelajari karakter-karakter penting dalam batasan spesies serta variasi morfologi yang menandakan dua varietas. Pengamatan morfologi dilanjutkan dengan membandingkan antara herbarium sampel Kebun Raya Bogor nomor koleksi IV.C.78 dengan 6 spesimen BO yang terpilih, khususnya yang memiliki karakter vegetatif dan generatif yang lengkap. Pengumpulan data morfologi dilakukan dengan mengacu pada buku "*Manual of Leaf Architecture*" karya Ellis *et al.*, (2009) dan "*Classification of The Architecture of Dicotyledonous Leaves*" karya Hickey (1973). Adapaun karakter yang diamati sebanyak 29 karakter seperti yang tersaji pada Tabel 3.1. Tabel hasil perbandingan dianalisis fenetik menggunakan aplikasi NTSYS.

Tabel 3.1 Karakter Morfologi *Payena acuminata* Koleksi Kebun Raya Bogor dan Herbarium

Karakter	Sifat Ciri				
	<i>Payena acuminata</i>				
	<i>P.</i> <i>acuminata</i> (IV.C.78)	Herbarium 1	Herbarium 2	Herbarium 6
Daun					
Bentuk					
Ujung					
Pangkal					
Panjang					
Lebar					
Tepi					
Warna					
Permukaan					
Adaksial (trikoma)					
Warna					
Permukaan					
Abaksial (trikoma)					
Tulang					
Daun					
Tulang					
daun					
sekunder					
Jumlah					
Secondary					
Vein					
Sudut					
Secondary					
vein					
Petiol					
Panjang					
Petiol					

Tabel 3.1 Lanjutan

Karakter	Sifat Ciri				
	<i>Payena acuminata</i>				
	<i>P. acuminata (IV.C.78)</i>	Herbarium 1	Herbarium 2	Herbarium 6
Permukaan petiol					
Bunga					
Letak					
Bunga					
Permukaan pedicel (pubescent)					
Panjang pedicel					
Panjang sepal					
Lebar sepal					
Permukaan Sepal luar bagian dalam					
Permukaan Sepal luar bagian luar					
Permukaan Sepal dalam bagian dalam					
Permukaan sepal dalam bagian luar					
Tepi sepal					
Jumlah corolla					
Panjang corolla					

Tabel 3.1 Lanjutan

Karakter	Sifat Ciri <i>Payena acuminata</i>			
	<i>P.</i> <i>acuminata</i> (IV.C.78)	Herbarium 1	Herbarium 2 Herbarium 6
Permukaan corolla				
Ujung anther				
Jumlah stamen				

c) Analisis Data Morfologi

Data hasil karakter morfologi berupa tabel deskriptif diubah menjadi data multivariat dengan memberikan skor 1, 2, 3 dan seterusnya menyesuaikan variasi data karakter morfologi yang dihasilkan dengan menggunakan aplikasi Microsoft exel kemudian disimpan dalam bentuk *tab delimited*. Data dibuka pada bagian folder untuk memastikan bahwa data sudah benar-benar masuk, kemudian dihapus bagian spasi atau enter di bagian bawah hasil, lalu disimpan ulang. Data Hasil tersebut diedit menggunakan aplikasi NTedit untuk mengkonversi data dalam bentuk (*extention*) *.NTS sehingga memudahkan pembuatan dendogram pada aplikasi NTSYS.

d) Pembuatan Dendogram

Dibuka aplikasi NTSYS kemudian dipilih ikon similarity dan dipilih *qualitative* data dengan klastering SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested*) metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) serta nilai indeks similaritas menggunakan SSM (*Simple Matching*). Apabila muncul dendogram lebih dari satu maka dipilih dendogram yang paling merepresentasikan kenyataan karakter *P. acuminata* yang diamati.

2. Pendekatan Molekuler

a) Penggerusan sampel

Sampel daun yang sudah diambil, dipotong menggunakan gunting menjadi ukuran kecil dan diletakkan pada mortar. Sebanyak satu spatula pasir kuarsa ditambahkan ke dalam mortar kemudian digerus hingga menjadi serbuk. Serbuk daun yang sudah halus dimasukkan ke dalam *tube*1, 5 mL sebanyak 0,1 mL yang akan digunakan untuk ekstraksi. Sisa serbuk sampel daun dimasukkan ke dalam *tube* 2 mL sebagai sampel stok.

b) Ekstraksi

Ekstraksi DNA dilakukan sesuai dengan manual *Plant Genomic DNA kit* (TianGen) yang telah dimodifikasi. Sebanyak dua spatula serbuk daun dimasukkan ke dalam

tube 1,5 mL kemudian ditambahkan dengan *buffer* GP1 sebanyak 700 μ L dan divortex selama 10-20 detik, lalu diinkubasi menggunakan *heatblock* selama 20 menit pada suhu 65 °C dan (setiap 5 menit dilakukan inversi). Sebanyak 700 μ L kloroform ditambahkan ke dalam *tube* 1,5 mL dan dilakukan inversi, lalu disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan diambil menggunakan mikropipet dan dipindahkan ke dalam *tube* baru berukuran 2 mL, kemudian ditambahkan dengan 700 μ L *buffer* GP2 dan diinversi tiga kali. Semua larutan dalam *tube* dipipet dan dipindahkan ke dalam *spin column* CB3 kemudian disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm lalu filtrat hasil sentrifugasi dibuang.

Sebanyak 500 mL *buffer* GD yang sebelumnya sudah ditambahkan dengan etanol 96-100% ditambahkan ke dalam *spin column* CB3 kemudian disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm dan filtrat yang ada di *collection tube* dibuang. Sebanyak 600 mL larutan PW yang sudah ditambahkan etanol 96% ditambahkan ke dalam *spin column* CB3 lalu disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm dan dibuang filtrat yang ada di *collection tube*. Sebanyak 600 mL larutan PW yang sudah ditambahkan etanol 96% ditambahkan ke dalam

spin column CB3 untuk mencuci membran, lalu disentrifugasi selama 2,5 menit. *Spin column CB3* dipindahkan ke dalam ke *tube* 1,5 mL dan ditambahkan dengan 100 μL *buffer* TE lalu diinkubasi selama 2-5 menit pada suhu ruang kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12.000 rpm.

c) Konfirmasi Hasil Isolasi

Amplifikasi menggunakan primer *rbcL* dilakukan untuk konfirmasi keberadaan DNA hasil isolasi. Komposisi untuk amplifikasi menggunakan primer *rbcL* yaitu PCR Mix sebanyak 13 μL , ddH₂O sebanyak 3 μL , sampel DNA sebanyak 2 μL dan primer *rbcL forward* sebanyak 1 μL dan primer *rbcL reverse* sebanyak 1 μL . Kondisi PCR yang dipakai untuk primer *rbcL* terdiri dari pra-denaturasi dengan suhu 94°C selama 1 menit 30 detik, tahap denaturasi dengan suhu 94°C selama 15 detik, tahap annealing dengan suhu 52°C selama 15 detik, tahap ekstensi pada suhu 72°C selama 20 detik, dan tahap pos-ekstensi pada suhu 72 °C selama 4 menit. Tahap terakhir dalam PCR yaitu tahap terminasi (penyimpanan) pada suhu 4°C.

d) Amplifikasi

Komposisi untuk amplifikasi menggunakan gen *ITS* yaitu PCR Mix sebanyak 25 μL , ddH₂O sebanyak 11 μL ,

sampel DNA sebanyak 10 μL dan primer *ITS forward* sebanyak 2 μL dan primer *ITS reverse* sebanyak 2 μL . Kondisi PCR yang dipakai untuk gen *ITS* terdiri dari pra-denaturasi dengan suhu 95°C selama 1 menit, tahap denaturasi dengan suhu 95°C selama 15 detik, tahap annealing dengan suhu 58°C selama 15 detik, tahap ekstensi pada suhu 72°C selama 10 detik, dan tahap pos-ekstensi pada suhu 72 °C selama 5 menit. Tahap terakhir dalam PCR yaitu tahap terminasi (penyimpanan) pada suhu 4°C.

e) Elektroforesis

Sampel hasil amplifikasi dielektroforesis menggunakan gel *agarose* konsentrasi 1%. Sebanyak 0,80 gr *agarose* dilarutkan dalam TAE 1X 80 mL pada erlenmeyer. Larutan *agarose* ditutup menggunakan alumunium foil dan dimicrowave selama 1 menit. Sebanyak 1 μL *gel red* ditambahkan ke dalam erlemneyer dan dituangkan ke dalam cetakan yang sebelumnya sudah dipasang sisir elektroforesis lalu didiamkan hingga larutan memadat. Gel *agarose* yang sudah memadat dimasukkan ke dalam bak elektroforesis yang berisi larutan TAE 1X. Sebanyak 2 μL DNA *ladder* dimasukkan ke dalam sumuran paling ujung kiri menggunakan mikropipet dan 5 μL sampel DNA dimasukkan ke dalam

sumuran menggunakan mikropipet. Mesin elektroforesis diatur tegangannya 100 volt dengan waktu 45 menit kemudian divisualisasi menggunakan UV-Tray.

f) Sekuensing

Sekuensing dilakukan dengan produk PCR daerah target dari sampel *Payena acuminata* dikirimkan ke jasa pihak ketiga Genetika Science di Laboratorium 1st Base Singapura. Tahapan ini berfungsi untuk memperoleh data urutan nukleotida daerah target. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan metode Sanger.

g) Analisis Data Sekuen

Urutan sekuen yang telah diperoleh dianalisis kesamaan sekuen dengan data *gene bank* menggunakan *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) (Kumar *et al.*, 2018) dan website NCBI. Data awal yang diperoleh berupa elektroforegram *forward* dan *reverse* disunting dengan bagian awal dan bagian akhir dipotong ± 20 sekuen bp. Hasil sekuensing dari primer *reverse* dikomplemen melalui *reverse complement*. Hasil pemotongan digabungkan menggunakan aplikasi MEGA dan disejajarkan menggunakan *ClustalW* sehingga menghasilkan contig kemudian disimpan dalam bentuk mega file dan fasta file.

h) BLASTing

Hasil contig *ITS* dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dari website NCBI. Nucleotide BLAST di-klik kemudian akan masuk ke dalam jendela BLASTn. Hasil contig disalin kemudian ditempel ke kolom BLAST, kemudian klik BLAST pada bagian bawah. Hasil BLAST akan muncul dengan menampilkan 100 sekuen nukleotida yang memiliki tingkat kemiripan dengan sekuen contig. 10 sekuen hasil BLAST dari genus *Payena* dipilih dengan cara klik kolom kotak yang ada di samping deskripsi hingga muncul simbol centang. Sekuen terpilih diunduh dengan cara klik download kemudian pilih FASTA (*aligned sequence*) dan akan terunduh dalam bentuk seqdump.txt.

i) Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan aplikasi MEGA 11. Diedit hasil unduhan dari website NCBI menggunakan MEGA 11 dengan memasukkan data hasil kemudian dilakukan penyejajaran dengan dipilih seluruh sekuen lalu pilih *alignment* menggunakan *ClustalW*. Hasil penyejajaran kemudian disimpan dalam dua format yaitu format mega file dan format fasta file. Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) dan

model substitusi Kimura 2-parameter dengan pengulangan bootstrap 1000 kali.

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. DESKRIPSI HASIL PENELITIAN

1. Perbandingan Karakter Morfologi

Perbandingan karakter morfologi antara *Payena acuminata* KRB nomor koleksi IV.C.78 dan 6 koleksi Herbarium Bogoriense *P. acuminata* yang masing-masing tiga dari var. *acuminata* dan 3 dari var. *pulchra*. Hasil perbandingan karakterisasi morfologi diperoleh 29 karakter yang berbeda pada daun dan organ generatif. Hasil perbandingan dapat dilihat pada Tabel 4.1 di bawah ini.

Tabel 4.1 Perbandingan Karakter Morfologi *Payena acuminata*

Karakter	Sampel	<i>Payena acuminata</i> var. <i>acuminata</i>			<i>Payena acuminata</i> var. <i>pulchra</i>		
	IV.C.78	0092250	151779	0092903	0092803	0094717	0090644
Daun							
Bentuk	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>	<i>Eliptic</i>
Ujung	<i>Acuminate</i>	<i>Acuminate</i>	<i>Acuminate</i>	<i>Acuminate</i>	<i>Acute</i>	<i>Acuminate</i>	<i>Acuminate</i>
Pangkal	<i>Cuneate</i>	<i>Cuneate</i>	<i>Cuneate</i>	<i>Cuneate</i>	<i>Cuneate</i>	Membulat	Membulat
Panjang	11-20 cm	8-11 cm	5-13 cm	8-11 cm	6,5-9 cm	13-15 cm	13-20 cm

Tabel 4.1 Lanjutan

Karakter	Sampel	<i>Payena acuminata</i> var. <i>acuminata</i>			<i>Payena acuminata</i> var. <i>pulchra</i>		
	IV.C.78	0092250	151779	0092903	0092803	0094717	0090644
Lebar	4-7,5 cm	3-4,5 cm	2-4 cm	2,7-5,5 cm	3-5 cm	5-6 cm	5-7,5 cm
Tepi	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
Warna	Putih	Cokelat	Cokelat	Cokelat	Trikoma	Cokelat	Cokelat
Permukaan	keperakan				tidak ada		
Adaksial							
Warna	Putih	Cokelat	Cokelat	Cokelat	Cokelat	Cokelat	Cokelat
Permukaan	keperakan	transparan	transparan	transparan			
Abaksial							
Tulang							
Daun							
Sudut	70-75°	60-70°	50-55°	65-70	60-70°	65-70°	55-60
Secondary							
vein dengan							
primary							
vein							
Jumlah	14-16	13-15	12-14	14-16	13-14	16-19	16-18
Secondary							
Vein							

Tabel 4.1 Lanjutan

Karakter	Sampel	<i>Payena acuminata</i> var. <i>acuminata</i>			<i>Payena acuminata</i> var. <i>pulchra</i>		
	IV.C.78	0092250	151779	0092903	0092803	0094717	0090644
Bunga							
Letak Bunga	-	Ketiak daun	Ketiak daun, ujung batang	Ketiak daun, cabang batang	Cabang batang, ketiak daun, ujung pohon	Ketiak daun	Ketiak daun
Permukaan Tangkai Bunga	Tertutupi trikoma	Tertutupi trikoma banyak	Tertutupi trikoma	Tertutupi trikoma	Tertutupi trikoma banyak	Tertutupi trikoma banyak	Tertutupi trikoma banyak
Panjang Tangkai Bunga	12 mm	5-7 mm	8 mm	5-7 mm	3 mm	5 mm	5 mm
Permukaan Tangkai Bunga (pubescent)	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	ya

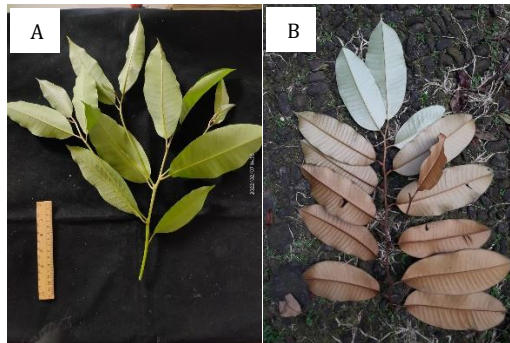
Tabel 4.1 Lanjutan

Karakter	Sampel	<i>Payena acuminata</i> var. <i>acuminata</i>			<i>Payena acuminata</i> var. <i>pulchra</i>		
	IV.C.78	0092250	151779	0092903	0092803	0094717	0090644
Tepi Sepal dalam	Berambut	Berambut	Berambut	Berambut	Berambut	Berambut	Berambut
Jumlah Corolla	8	8	8	8	8	7	8
Panjang Corolla	6 mm	6mm	6,5 mm	7 mm	4 mm	6 mm	4 mm
Permukaan Corolla	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>	<i>Glabrous</i>
Ujung anther	Lancip bergerigi, melebar	Lancip bergerigi, melebar	Bergerigi	Bergerigi, melebar	Lancip Bergerigi melebar	Lancip, Bergerigi	Lancip Bergerigi, melebar bergerigi
Jumlah stamen	16	16	16	16	16	16	16

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa dari ketujuh herbarium *P. acuminata* yang diamati, sampel *P. acuminata* nomor koleksi IV.C.78 memiliki persamaan dengan enam herbarium pembanding pada bentuk daunnya yang *elliptic*, permukaan sepal dan corolla yang *glabrous*, jumlah stamen 16 dan jumlah corolla delapan. Sampel *P. acuminata* nomor koleksi IV.C.78 secara morfologi termasuk ke dalam *P. acuminata* var. *acuminata* karena memiliki kesamaan yang lebih banyak dibandingkan dengan karakter yang ada pada *P. acuminata* var. *pulchra*. Karakter yang paling membedakan antara var. *acuminata* dengan var. *pulchra* adalah tulang daun sekunder. Pada *P. acuminata* var. *acuminata* tulang daun sekundernya tipis dan tidak menonjol sedangkan pada *P. acuminata* var. *pulchra* tulang daun sekundernya tajam dan menonjol. Satu dari dua herbarium yang dijadikan acuan *P. acuminata* var. *pulchra* memiliki tulang daun yang cukup tipis yaitu pada nomor koleksi 0092803. Dokumentasi perbandingan herbarium dapat dilihat pada Tabel Lampiran 1 dan Gambar Lampiran 3.

Karakter morfologi sampel *P. acuminata* (IV.C.78) memiliki permukaan abaksial daun berwarna putih keperakan. Warna putih keperakan konsisten dan tidak mengalami perubahan pada daun muda dan daun dewasa. Sedangkan koleksi hidup Kebun Raya Bogor *P. acuminata* (IV.B.55A)

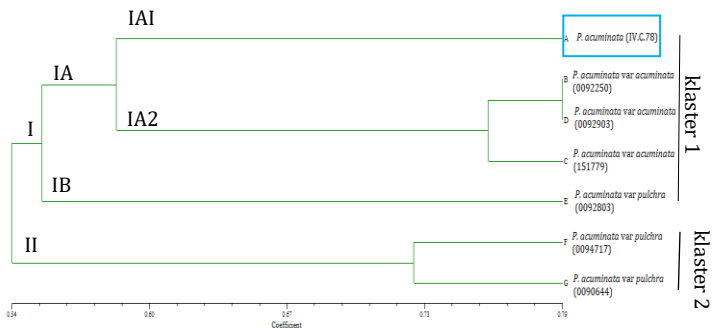
memiliki warna permukaan abaksial daun yang berubah dari warna putih keperakan pada daun muda dan warna kecoklatan pada daun dewasa (Gambar 4.1). Hal ini menunjukkan kemungkinan spesimen *P. acuminata* dapat mengalami perubahan warna permukaan abaksial dari putih keperakan menjadi coklat.



Gambar 4.1 Koleksi hidup Kebun Raya Bogor. A (IV.C.78) (Dokumentasi Pribadi). B (IV.B.55A)(Prima, 2022)

Rekonstruksi dendrogram hasil karakterisasi morfologi menggunakan aplikasi NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariat Analysis System*) menghasilkan dendrogram. Dendrogram yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.2. Gambar 4.2 menunjukkan bahwa terbentuk dua kluster besar dengan matriks similaritas 0,54 – 0,79. Kluster I terdiri dari lima spesimen herbarium dengan nomor koleksi yaitu IV.C.78 (A), 0092250 (B), 151779 (C), 0092903 (D), dan 0092803 (E) sedangkan kluster II hanya terdiri dari 2 spesimen herbarium

yaitu 0094717 (F) dan 0090644 (G). Klater I dibagi menjadi dua subkluster dengan matriks similaritas 0,55. Subkluster IA terdiri dari 4 spesimen yaitu A, B, C, dan D sedangkan pada subkluster IB hanya terdiri dari 1 spesimen yaitu E (*P. acuminata* var. *pulchra* (0092803)). Subkluster IA menunjukkan bahwa sampel *P. acuminata* koleksi Kebun Raya Bogor IV.C.78 bergabung membentuk kelompok *P. acuminata* var. *acuminata* dengan matriks similaritas 0,59.



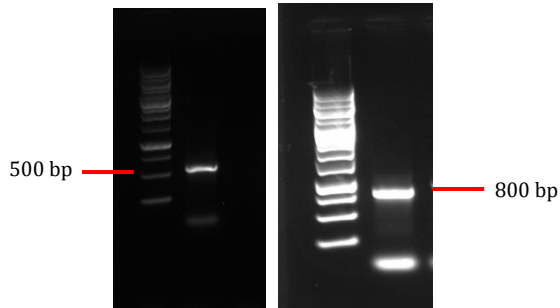
Gambar 4.2 Dendrogram karakter morfologi *P. acuminata*

2. Verifikasi melalui Pendekatan Molekuler

a. Hasil Isolasi dan Amplifikasi *Payena acuminata*

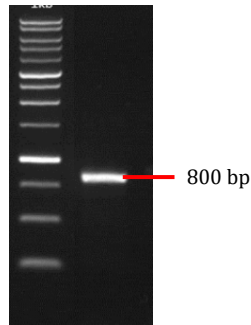
Hasil isolasi dan amplifikasi menggunakan *kit* Tiangen dapat memisahkan DNA dari komponen sel lain yang ditunjukkan dengan munculnya pita DNA pada proses visualisasi menggunakan elektroforesis. Hasil elektroforesis menggunakan primer *rbcl* dapat dilihat pada Gambar 4.3 (kiri). Pita DNA yang muncul menunjukkan bahwa telah

terkonfirmasi DNA dari tumbuhan yang berhasil diisolasi dengan panjang sekuen ± 500 bp.



Gambar 4.3 Hasil visualisasi elektroforesis verifikasi hasil isolasi (kiri). Hasil visualisasi elektroforesis ITS (kanan)

Hasil elektroforesis yang dilakukan oleh pihak jasa sekuensing memperlihatkan pita DNA yang terbentuk cukup tebal dengan rentang panjang pita DNA ± 800 bp. Pita DNA yang terbentuk memiliki rentang panjang yang sesuai dengan target amplifikasi *ITS* yaitu ± 800 bp, selain itu juga tidak terdapat primer dimer yang terletak di ujung sumuran. Hasil visualisasi dapat dilihat pada Gambar 4.4.

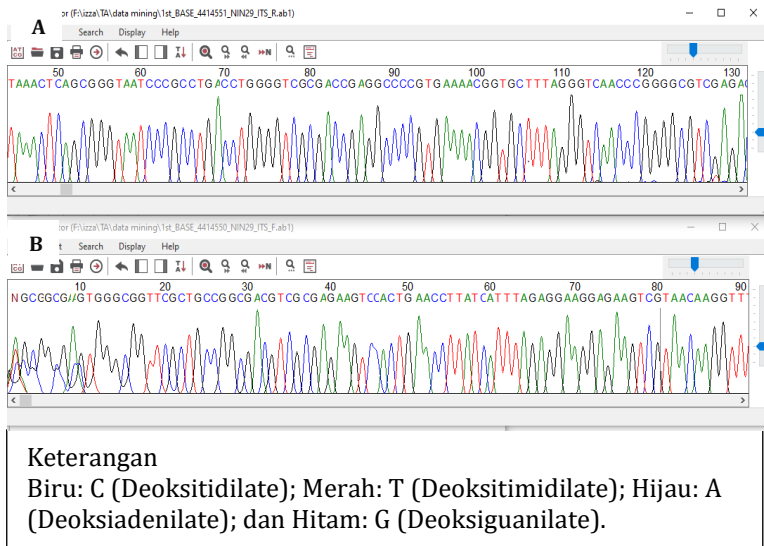


Gambar 4.4 Hasil visualisasi elektroforesis sebelum sekuensing

Data hasil dari sekunsiing berupa file dengan format AB1. File tersebut berisi 2 data yang masing masing berupa sekuen *forward* dan *reverse*. Sekuen yang diberikan masih berupa data mentah yang berbentuk elektroforegram (puncak) dengan warna yang berbeda-beda. Warna nukleotida yang berbeda mewakili nukleotida purin dan pirimidin tertentu. Warna biru menunjukkan nukleotida C (Deoksitidilate), warna merah menunjukkan nukleotida T (Deoksitimidilate), warna hijau menunjukkan nukleotida A (Deoksiadenilate) dan warna hitam menunjukkan nukleotida G (Deoksiguanilate).

Hasil elektroforegram sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor bagus karena memiliki puncak yang saling terpisah dan memiliki puncak tinggi. Data elektroforegram dapat dilihat pada Gambar 4.5. Selain itu, terdapat sekuen dengan huruf N yang bukan berupa nukleotida A, T, G, dan C pada elektroforegram *forward* di

urutan pertama. Sekuen *forward* memiliki panjang 822 bp dan sekuen *reverse* memiliki panjang 823 bp. Panjang sekuen yang sudah dilakukan diediting (contig) yaitu 818 bp (Lampiran 3).



Gambar 4.5 Elektroforegram parsial hasil sekuensing sampel *P. acuminata*. A (*reverse*); B (*forward*)

Sepuluh sekuen yang diunduh terdiri dari *P. acuminata* (2), *P. maingayi* (2), *P. lucida* (3), *P. leerii* (1), *P. ferruginea* (1), dan *P. obscura* (1). Hasil BLAST menunjukkan bahwa *P. acuminata* muncul pada barisan paling atas dan memiliki *percent identity* 100% yang menandakan bahwa sekuen contig memiliki persamaan dengan *Payena acuminata* (KF686292 dan HF542856). Sepuluh sekuen hasil BLAST dapat dilihat pada Tabel 4.2. Sepuluh sekuen terpilih memiliki nilai *E. value* 0,0

dan 8 dari sepuluh sekuen memiliki *percent identity* diatas 90%. sekuen *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) dan *P. lucida* (KF686295 dan HF542857) memiliki nilai *query cover* 90%.

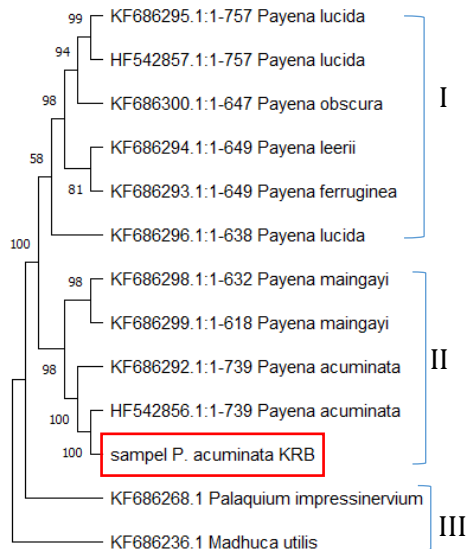
Tabel 4.2 Sepuluh sekuen hasil BLAST

<i>Scientific Name</i>	<i>Max Score</i>	<i>Total score</i>	<i>Que. cover</i>	<i>E. Val</i>	<i>Perc. Ident</i>	<i>Acc Len</i>	No Akses
<i>P. acuminata</i>	1365	1365	90%	0.0	100.0	743	KF686292
<i>P. acuminata</i>	1365	1365	90%	0.0	100.0	762	HF542856
<i>P. lucida</i>	1077	1077	90%	0.0	92.77	761	KF686295
<i>P. lucida</i>	1077	1077	90%	0.0	92.77	779	HF542857
<i>P. maingayi</i>	1075	1075	76%	0.0	97.47	632	KF686298
<i>P. maingayi</i>	1048	1048	75%	0.0	97.25	618	KF686299
<i>P. leerii</i>	920	920	76%	0.0	92.78	649	KF686294
<i>P. lucida</i>	893	893	75%	0.0	92.50	638	KF686296
<i>P. ferruginea</i>	887	887	76%	0.0	91.88	649	KF686293
<i>P. obscura</i>	852	852	76%	0.0	90.95	647	KF686300

b. Analisis Filogenetik *P. acuminata*

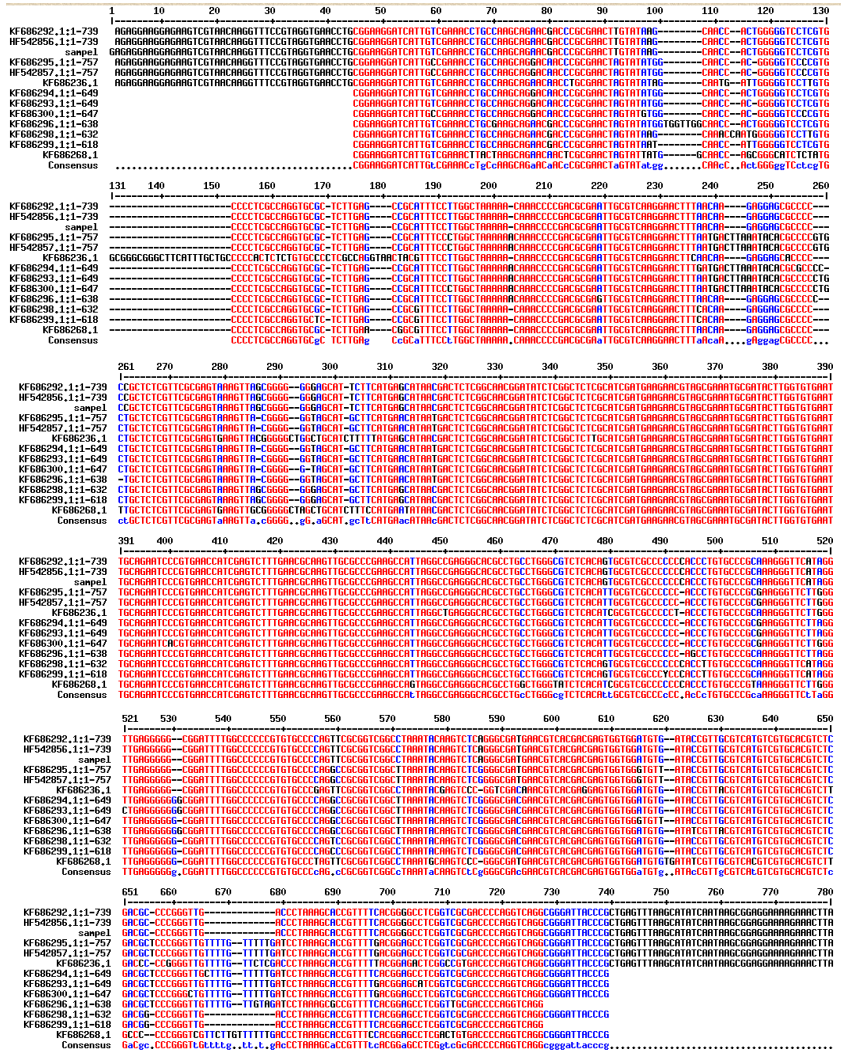
Berdasarkan penggunaan beberapa jenis metode rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa metode rekonstruksi yang dapat merepresentasikan hasil penyejajaran adalah metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) model substitusi Kimura 2 parameter. Pohon hasil rekonstruksi menunjukkan bahwa 13

sekuen yang direkonstruksi membentuk 2 klad besar dan 1 klad kecil dari sekuen outgrup. Klad 1 terbentuk dari sekuen *P. lucida*, *P. obscura*, *P. leerii*, *P. ferruginea*. Sedangkan klad 2 terbentuk dari sekuen *P. acuminata* dan *P. maingayi*. Sampel *P. acuminata* koleksi KRB dengan nomor koleksi IV.C.78 bergabung dengan kelompok *P. acuminata* KF686292 dan *P. acuminata* HF542856 yang memiliki nilai bootsrap 100 (Gambar 4.6). Hasil pohon filogenetik menunjukkan bahwa *P. acuminata* berkerabat dekat dengan *P. maingayi* yang diperlihatkan dengan mengelompok dalam satu klad yang sama.



Gambar 4.6 Pohon filogenetik menggunakan metode UPGMA model substitusi Kimura 2-Parameter bootstrap 1000 kali

Analisis lebih lanjut menggunakan MultAlin untuk melihat variasi sekuen nukleotida dari sekuen hasil BLAST. Hasil analisis menggunakan MultAlin menunjukkan bahwa terdapat 94 variasi nukleotida dari 13 sekuen. Sekuen nukleotida sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor memiliki nukleotida sama dengan dua sekuen *P. acuminata* unduhan dari NCBI, yang menjadi pembeda hanyalah panjang sekuennya. Sekuen sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor memiliki sekuen yang lebih panjang 1 bp yaitu 740 dibandingkan dengan dua sekuen *P. acuminata* unduhan dari NCBI (KF686292 dan HF542856) yang memiliki panjang sekuen 739 bp.



Gambar 4.7 Hasil penyajian menggunakan MultAlin

Tabel 4.3 Komposisi nukleotida 13 sekuen hasil penyejajaran menggunakan MEGA

No	Sekuen	Komposisi Nukleotida (%)				Total (bp)
		T	C	A	G	
1.	KF686292.1 <i>P. acuminata</i>	19,9	27,7	23,4	28,9	739
2.	HF542856.1 <i>P. acuminata</i>	19,9	27,7	23,4	28,9	739
3.	KF686295.1 <i>P. lucida</i>	21,5	26,9	22,8	28,6	757
4.	HF542857.1 <i>P. lucida</i>	21,5	26,9	22,8	28,6	757
5.	KF686298.1 <i>P. maingayi</i>	19,6	29,2	21,3	29,7	632
6.	KF686299.1 <i>P. maingayi</i>	19,9	29,4	21,2	29,3	617
7.	KF686294.2 <i>P. leerii</i>	21,7	28,8	20,8	28,6	649
8.	KF686296.1 <i>Payena lucida</i>	21,7	27,5	20,8	29,7	638
9.	KF686293.1 <i>P. ferruginea</i>	21,7	28,5	21,1	28,6	649
10.	KF686300.1 <i>P. obscura</i>	21,4	29,0	20,7	28,7	647
11.	KF686268.1 <i>Palaquium impressinervium</i>	22,6	28,2	20,8	28,2	648
12.	KF686236.1 <i>Madhuca utilis</i>	22,4	26,4	22,7	28,3	779

Tabel 4.3 Lanjutan

No	Sekuen	Komposisi Nukleotida (%)				Total (bp)
		T	C	A	G	
13.	sampel <i>P. acuminata</i> KRB	19,8	27,7	23,3	29,0	740
	Rata-rata	21,08	27,97	22,04	28,89	691,61

Komposisi nukleotida menggunakan MEGA dapat dilihat pada Tabel 4.3. Hasil analisis komposisi nukleotida menunjukkan bahwa komposisi antara sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dan dua sekuen *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) tidak jauh berbeda. Masing-masing komposisi nukleotida antara sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dan dua sekuen *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) hanya selisih 0,1 untuk nukleotida T, A dan G serta selisih 1 bp untuk panjang sekuennya. Komposisi nukleotida C pada sekuen sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dan dua sekuen *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) memiliki komposisi nukleotida C yang sama yaitu 27,7. Tingkat kesamaan komposisi nukleotida setelah *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) yaitu *P. maingayi*. Hal ini karena *P. maingayi* berkerabat dekat dengan *P. acuminata*.

Analisis jarak genetik memperkuat bahwa sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor adalah benar *P. acuminata*, yang ditunjukkan dengan nilai jarak genetik yang kecil yaitu 0,000 pada spesies *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856). Nilai jarak genetik terjauh dengan nilai 0,111 oleh *Madhuca utilis*. Hasil jarak genetik dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Jarak Genetik

No	Sekuen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	KF686292. <i>Payena acuminata</i>													
2	HF542856. <i>Payena acuminata</i>	0,000												
3	KF686295. <i>Payena lucida</i>	0,056	0,056											
4	HF542857. <i>Payena lucida</i>	0,056	0,056	0,000										
5	KF686298. <i>Payena maingayi</i>	0,024	0,024	0,060	0,060									
6	KF686299. <i>Payena maingayi</i>	0,024	0,024	0,061	0,061	0,009								
7	KF686294. <i>Payena leerii</i>	0,049	0,049	0,020	0,020	0,049	0,048							

Tabel 4.4 Lanjutan

No	Sekuen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8	KF686296. <i>Payena lucida</i>	0,043	0,043	0,044	0,044	0,045	0,043	0,035						
9	KF686293. <i>Payena ferruginea</i>	0,051	0,051	0,015	0,015	0,051	0,052	0,010	0,035					
10	KF686300. <i>Payena obscura</i>	0,062	0,062	0,007	0,007	0,061	0,063	0,022	0,047	0,017				
11	KF686268. <i>Palaquium impressinervium</i>	0,097	0,097	0,129	0,129	0,100	0,105	0,129	0,121	0,131	0,133			
12	KF686236. <i>Madhuca utilis</i>	0,111	0,111	0,136	0,136	0,116	0,118	0,133	0,134	0,130	0,140	0,137		
13	Sampel <i>P. acuminata</i> KRB	0,000	0,000	0,056	0,056	0,024	0,024	0,049	0,043	0,051	0,062	0,097	0,111	

B. PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN

1. Verifikasi *P. acuminata* Berdasarkan Karakter Morfologi

Berdasarkan perbandingan karakter dari 121 herbarium Bogoriense, terdapat 6 sampel herbarium yang dijadikan sebagai perwakilan dari *P. acuminata* var. *acuminata* dan *P. acuminata* var. *pulchra*. Hasil perbandingan terhadap 29 karakter mengonfirmasi bahwa sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor mendekati karakter *P. acuminata* varietas *acuminata*. Duapuluh Sembilan karakter yang diamati meliputi karakter kualitatif dan kuantitatif. Karakter kualitatif merupakan karakter yang dimiliki pada tumbuhan yang tampak berdasarkan pengamatan visual sedangkan karakter kuantitatif merupakan karakter yang didasarkan oleh satuan ukuran (Permadi *et al.*, 2016). Dari 29 karakter yang diamati terdapat 13 karakter dianggap informatif dan merupakan karakter kunci dalam identifikasi jenis *P. acuminata* yaitu warna abaksial daun (Pereira, 1997), pangkal daun, panjang petiol, ukuran bunga, panjang pedicel, warna calyx, warna corolla, permukaan buah (Backer, 1965), bentuk daun, jumlah tulang daun sekunder, sudut tulang daun sekunder dan stipula (Bruggen, 1958)

Berdasarkan hasil perbandingan antara dua varietas, karakter informatif yang membedakan dua varietas *P.*

acuminata adalah pertulangan daunnya. Pertulangan daun yang diamati termasuk ke dalam karakter kualitatif dan kuantitatif. Karakter kualitatif pada tulang daun sekunder berupa tebal tipisnya tulang daun dan karakter kuantitatif pada tulang daun sekunder berupa jumlah tulang daun sekunder dan sudut tulang daun sekunder. Karakter kunci yang menjadi pembeda antar var. *acuminata* dan var. *pulchra* adalah tulang daun sekundernya. Tulang daun sekunder (*secondary vein*) merupakan tulang daun yang muncul dari percabangan tulang daun primer (ibu tulang daun) yang memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan dengan tulang daun primer (Latifa, 2015). Pada *P. acuminata* var. *acuminata* tulang daun sekundernya tipis dan tidak menonjol sedangkan pada *P. acuminata* var. *pulchra* tulang daun sekundernya tajam dan menonjol (Bruggen, 1958; Lam, 1925; Pereira, 1997). Pada sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor tulang daun sekundernya tipis dan tidak menonjol, sehingga *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor termasuk ke dalam *P. acuminata* var. *acuminata*.

Karakter lain yang disebutkan di monograf (Bruggen, 1958; Lam, 1925) yang menjadi pembeda antar var. *acuminata* dan var. *pulchra* yaitu ukuran daunnya. Ukuran daun pada var. *acuminata* lebih ramping dibandingkan dengan ukuran daun pada var. *pulchra* yang relatif lebar. Menurut Lam (1925)

ukuran daun pada var. *acuminata* yaitu panjang daunnya 6, 5-24 cm dan lebar 2,8- 8,7 cm sedangkan pada var. *pulchra* yaitu panjang daunnya 11-22 cm dan lebar daunnya 14,5-9 cm. Sedangkan menurut Bruggen (1958) ukuran daun pada var. *acuminata* panjang daun 6,5-24 dan lebar daun 4-7 cm, pada var. *pulchra* memiliki lebar daun 7-15 cm. Dalam pengamatan morfologi, ukuran daun kurang relevan dijadikan karakter pembeda karena daun dapat mengalami perubahan seiring bertumbuhnya tanaman. Karakter pada daun yang berupa ukuran daun termasuk ke dalam karakter vegetatif. Karakter vegetatif merupakan fase perkembangan organ non reproduktif seperti pada akar, batang dan daun. Karakter vegetatif tidak informatif untuk dijadikan acuan pembeda antar spesies karena karakter vegetatif dapat mengalami perubahan seiring proses pertumbuhan, karena masih dalam proses pertumbuhan maka ukuran tidak dapat kembali pada keadaan semula atau bersifat irreversibel (Arimbawa, 2016). Perubahan ukuran daun pada karakter vegetatif dikarenakan adanya adaptasi dari lingkungan dan dapat juga dipengaruhi oleh faktor genetik (Muttaqien dan Rahmawati, 2019).

Analisis dendrogram menunjukkan bahwa dari enam spesimen yang sudah dikarakterisasi mengelompok sesuai dengan kesamaan karakter yang dimiliki pada masing-masing spesimen (Arfan, 2022). Matriks similaritas yang dihasilkan

yaitu 0,54 – 0,79, jika dilihat dari nilai matriks similaritas yang hampir mendekati 1 maka antar organisme memiliki hubungan kekerabatan yang cukup dekat. Hal ini sesuai dengan pendapat Yatim (1991) yang menyatakan bahwa hubungan kekerabatan akan semakin dekat jika nilai matriks similaritasnya mendekati 1 begitu pula sebaliknya, jika nilai matriks similaritasnya mendekati 0 maka hubungan kekerabatannya semakin jauh.

Sampel *Payena acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor memiliki karakteristik yang berbeda dengan *Payena acuminata* pada umumnya yang mendeskripsikan permukaan abaksial *Payena acuminata* berwarna coklat – kuning (Bruggen, 1958; Lam, 1925; Pennington, 1991). Karakteristik berbeda yang dimaksud adalah warna abaksial yang berwarna putih keperakan. Warna putih keperakan pada trikoma bagian abaksial hanya ditemukan pada sampel hidup koleksi Kebun Raya Bogor (IV.C.78 – IV.B.55A). Pengamatan pada sampel *P. acuminata* (IV.C.78) warna trikoma bagian abaksial tidak mengalami perubahan warna baik pada daun muda ataupun daun dewasa, yaitu tetap berwarna putih keperakan sedangkan pada koleksi hidup Kebun Raya Bogor (IV.B.55A) memperlihatkan bahwa terdapat perubahan warna trikoma dari abaksial daun muda ke daun yang lebih dewasa. Pada daun

muda berwarna putih keperakan dan pada daun dewasa berwarna kecoklatan.

Perubahan warna trikoma pada *P. acuminata* koleksi hidup Kebun Raya Bogor (IV.B.55A) diduga karena adanya pengaruh lingkungan seperti pengaruh polutan. Adanya pengaruh polutan terhadap perubahan warna trikoma telah dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Maulida (2016) yang menjelaskan bahwa perubahan warna trikoma pada daun jadi dikarenakan adanya polutan yang menempel pada daun. Selain itu, perubahan warna trikoma dikarenakan adanya kerusakan pada bagian epidermis yang terjadi akibat adanya silvering pada permukaan daun karena menempelnya partikel dan polutan (Baldisserotto *et al.*, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Ambardini *et al.*, (2015) menyatakan bahwa perubahan warna menjadi putih pada daun muda dikarenakan tingginya kandungan logam berat pada tanah pasca tambang. Hal ini dapat terjadi karena terhambatnya enzim penyintesis klorofil.

Warna putih keperakan pada abaksial daun *P. acuminata* hanya ditemukan pada sampel hidup *P. acuminata* KRB. Monograf dari (Bruggen, 1958; Chantarnothai, 1967; Chantarnothai, 1999; Lam, 1925; Pennington, 1991, 2004; Pereira, 1997) menyebutkan bahwa warna abaksial daun dari *P. acuminata* berwarna coklat kemerahan. Tetapi monograf

dari Backer, A dan Van Den Brink, (1965) menyebutkan bahwa warna abaksial daun dari *P. acuminata* berwarna kuning keemasan atau keperakan. Satu-satunya monograf yang mendukung bahwa *P. acuminata* memang memiliki *range* warna dari coklat keemasan-keperakan. Deskripsi warna abaksial *P. acuminata* dalam “Flora of Java” yang ditulis oleh Backer, A dan Van Den Brink, (1965) diduga merupakan hasil observasi secara langsung pada spesimen koleksi *P. acuminata* Kebun Raya Bogor pada rentang tahun 1905-1925, sehingga hanya Backer yang menyebutkan bahwa warna putih keperakan pada abaksial daun *P. acuminata*. Sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor berasal dari Banten dan ditanam pada tahun 1955, jauh setelah observasi Backer, memiliki perbedaan dari segi warna abaksial daunnya saja yang berwarna putih keperakan sedangkan dari 121 herbarium *P. acuminata* memiliki warna abaksial coklat. Hal ini tidak begitu informatif karena perbandingannya dari herbarium yang daunnya sudah mengalami pengeringan sehingga diasumsikan warna trikoma juga ikut berubah (Morales *et al.*, 2002).

Varietas atau biasa disebut dengan var. merupakan tingkatan takson dibawah spesies. Varietas tanaman adalah suatu jenis tanaman yang memiliki bentuk tanaman, pertumbuhan tanaman dan kombinasi genotip atau ekspresi

karakteristik genotip yang dapat membedakan dari jenis atau spesies yang sama (KP-KIAT, 2006). Terdapat dua varietas yang dimiliki oleh *P. acuminata* yaitu var. *typica* /*acuminata* dan var. *pulchra* (Lam, 1925). *P. acuminata* var. *acuminata* dan *P. acuminata* var. *pulchra* cukup sulit untuk dibedakan. Hal ini diperkuat dengan herbarium nomor koleksi BO-151385 yang identifikasinya belum jelas, dan juga seperti pada koleksi herbarium BO-151385 (Gambar Lampiran 2) yang memiliki kerancuan penamaan yang dilakukan oleh Bruggen sendiri yaitu "*P. acuminata* var. *acuminata* var. *pulchra*". Hal ini menunjukkan bahwa antara var. *acuminata* dan var. *pulchra* masih sulit dibedakan dengan karakter vegetatif. Pengamatan melalui karakter vegetatif tidak informatif karena pada organ vegetatif dapat mengalami perubahan seiring proses pertumbuhan (Arimbawa, 2016).

2. Verifikasi *P. acuminata* melalui Pendekatan Molekuler

a. Hasil Isolasi dan Amplifikasi *P. acuminata*

Hasil isolasi dan amplifikasi menggunakan primer *rbcL* menunjukkan bahwa DNA dapat terisolasi dengan sempurna yang ditandai dengan munculnya pita DNA pada visualisasi elektroforesis. Pita DNA yang muncul memiliki panjang sekitar ± 500 bp, yang sesuai dengan target panjang primer *rbcL*. Hal ini relevan dengan literatur hasil penelitian (Kress dan Ericson,

2007) yang menjelaskan bahwa panjang pita DNA yang menggunakan primer *rbcL* umumnya menghasilkan pita DNA dengan panjang 500-650 bp untuk tanaman darat. Tetapi umumnya panjang pita DNA yang menggunakan primer *rbcL* yaitu 600 bp sesuai dengan penelitian (Perwitasari *et al.*, 2020).

Penggunaan gen *rbcL* digunakan untuk mengecek ada tidaknya pita DNA sampel yang sudah diekstraksi. Tetapi penggunaan gen *rbcL* hanya dapat membedakan sampel pada sampai tingkat marga, untuk membedakan sampel pada tingkat spesies tidak begitu baik karena gen *rbcL* merupakan gen yang mengode daerah *conserved* (daerah yang tidak mengalami mutasi atau daerah yang tidak banyak variasinya) sehingga tidak begitu akurat untuk membedakan sampel pada tingkat spesies (Kolondam *et al.*, 2012). Tetapi gen *rbcL* juga memiliki kelebihan yaitu mampu mengamplifikasi untuk banyak spesies dan mudah untuk sekuensing (Hollingsworth, 2011).

Hasil amplifikasi menggunakan primer ITS memperlihatkan pita DNA yang terbentuk cukup tebal dengan rentang panjang pita DNA ± 800 bp. Panjang pita yang dihasilkan sesuai dengan target *ITS* yaitu ± 800 bp. Hal ini sesuai dengan pendapat Gusmiati (2018) dan Shaw (2000) yang menyatakan bahwa rentang panjang pita DNA yang

diamplifikasi menggunakan gen *ITS 1* dan *ITS 2* memiliki panjang 700-900 bp. Hal tersebut menunjukkan bahwa DNA berhasil teramplifikasi dengan sempurna menggunakan sekuen *ITS* (Baldwin *et al.*, 1995).

Hasil visualisasi menggunakan sekuen *ITS* sebelum dilakukan proses sekuensing terdapat pita DNA yang berada di bawah marker yang disebut primer dimer (Setiyawan *et al.*, 2015). Primer dimer merupakan pita yang terbentuk karena pasangan primer saling menempel pada saat proses amplifikasi, hal ini dapat dikarenakan konsentrasi primer yang terlalu tinggi atau terlalu rendah (Setyawati dan Zubaidah, 2021)

Hasil sekuensing *P. acuminata* KRB memiliki elektroforegram yang baik ditandai dengan tidak adanya puncak yang saling menumpuk dan memiliki puncak yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Bangol, I. dan M. Kumaunang (2014) yang menjelaskan bahwa kualitas ampikon yang baik adalah memiliki puncak yang tinggi dan tidak memiliki puncak ganda (*doublepick*) dan saling terpisah antara satu dengan yang lainnya. Selain itu terdapat sekuen dengan huruf N yang bukan berupa nukleotida A, T, G, C pada sekuen *forward* urutan ke 37. Pada sekuen *forward* terdapat gap di awal urutan sekuennya sedangkan pada sekuen *reverse* terdapat gap di akhir urutan sekuennya dan pada urutan ke

817 dan 819. Adanya gap dalam suatu sekuen menunjukkan bahwa terdapat delesi atau insersi dari karakter sekuen selama proses evolusi (Indi, 2011).

Sekuen contig memiliki panjang sekuen 740 bp, dengan komposisi nuklotida T sebesar 19,8%, nukleotida C sebesar 27,7%, nukleotida A sebesar 23,3% dan nukleotida G sebesar 29,0%. komponen nukleotida yang paling banyak yaitu nukleotida C dan G, hal ini sesuai dengan penelitian Magandhi dan Hariri, (2020) yang menyatakan bahwa keragaman gen yang di amplifikasi menggunakan primer *ITS* memiliki nukleotida C dan G yang lebih banyak dibandingkan dengan nukleotida A dan T.

Hasil dari BLAST yaitu berupa 100 sekuen yang hampir mirip dengan sekuen sampel *P. acuminata* KRB. Dari 100 sekuen hasil BLAST hanya ada 10 sekuen yang dari genus *Payena* yaitu *P. acuminata*, *P. lucida*, *P. maingayi*, *P. leerii*, *P. obscura* dan *P. frugenia* dengan nilai tingkat *percent identity* dengan rentang 90 % - 100%. Semakin tinggi nilai *percent identity* semakin tinggi pula tingkat kemiripan nukleotidanya. *Percent identity* adalah nilai yang menunjukkan besarnya tingkat kesamaan sekuen sampel dengan sekuen yang ada di *database* (Claverie dan Notradame, 2007). Hasil BLAST 10 sekuen memiliki nilai *e-value* 0,0 yang menunjukkan bahwa sekuen yang telah diunduh memiliki tingkat kesamaan yang

cukup tinggi dengan sekuen sampel. Hal ini sesuai dengan pendapat Sharon *et al.*, (2005) yang mengemukakan bahwa nilai *expectation-value* yang semakin mendekati nol menunjukkan tingkat kepercayaan yang mendekati 100%.

Sepuluh sampel hasil BLAST yang diunduh memiliki kriteria positif sesuai pendapat Waterman dan Smith (1981) yang menyatakan bahwa kriteria sekuen sampel yang positif adalah memiliki skor BLAST diatas 156, nilai *e-value* dibawah 10^{-40} dan nilai *percent identity* diatas 75%. Tingginya skor hasil BLAST suatu sekuen dengan sekuen sampel menunjukkan bahwa hubungan antar sekuen memiliki kedekatan yang tinggi (Hall, 2001)

b. Analisis Filogenetik *P. acuminata*

Analisis filogenetik menggunakan MEGA 11 metode *Unweighted Pair Group Method with Aritmatic Mean* (UPGMA) dengan parameter Kimura 2-parameter. Analisis filogenetik merupakan analisis yang menggambarkan hubungan kekerabatan yang biasanya digambarkan dalam bentuk cabang-cabang yang membentuk seperti pohon (Irawan, 2013). Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode UPGMA, yang merupakan metode yang cukup mudah dan sederhana untuk merekonstruksi pohon filogenetik (Andriani, 2016). Metode ini termasuk ke dalam metode yang berbasis

jarak evolusi (*distance based*) dalam merekonstruksi pohon filogenetik (Andriani, 2016).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor mengelompok dengan *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) dengan nilai bootstrap tinggi yaitu 100 (Gambar 4.6). Nilai bootstrap merupakan nilai yang memiliki fungsi untuk menguji seberapa baik set data model yang digunakan (Indi, 2011). Nilai bootstrap yang dihasilkan termasuk ke dalam kategori tinggi. Nilai bootstrap yang dihasilkan dalam pohon dikatakan tinggi apabila memiliki nilai diatas 85% hal ini sesuai dengan pendapat Lestari dan Rodiyati (2018) yang menyatakan bahwa nilai bootstrap memiliki beberapa kategori yaitu tinggi (>85%), moderat (70-85%), lemah (50-69%) dan sangat lemah (<50%). Penelitian yang dilakukan oleh Muzzazinah (2017) yang menjelaskan bahwa pohon yang baik adalah pohon yang memiliki nilai bootstrap diatas 70.

Tiga klad terbentuk dalam rekonstruksi pohon filogenetik yang terdiri dari dua klad besar dan satu klad kecil. Klad satu berisi dengan *P. lerii*, *P. lucida*, *P. obscura* dan *P. ferrugenia*. Sedangkan klad dua berisi dengan *P. acuminata* dan *P. maingayi*. Sampel *P. acuminata* (IV.C.78) Koleksi Kebun Raya Bogor mengelompok dengan *P. acuminata* dan *P. maingayi* dalam satu klad dengan nilai bootstrap tinggi 98-100. *P.*

acuminata menjadi satu kelompok dengan *P. maingayi* karena memiliki hubungan kekerabatan yang cukup dekat dibandingkan dengan genus *Payena* yang lain. Hal ini dikarenakan karakter yang dimiliki *P. acuminata* dan *P. maingayi* sama, karakter yang menjadi pembeda hanyalah ukuran sepal yang lebih kecil pada spesies *P. maingayi* (NG, 1972)

Klad tiga terdiri dari outgrup yaitu *Palaquium impressinervium* dan *Madhuca utilis*. Penambahan outgrup bertujuan untuk mengetahui karakter primitif dari kelompok ingroup dan juga berfungsi untuk menentukan titik awal rekonstruksi pohon filogenetik (Muzzazinah, 2017). *Palaquium impressinervium* dan *Madhuca utilis* dipilih menjadi outgrup dalam rekonstruksi pohon filogenetik karena memiliki hubungan kekerabatan terdekat dengan ingroup tetapi tidak sedekat anggota kelompok dalam ingroup (Campbell *et al.*, 2003).

Hasil analisis menggunakan MultAlin ditemukan bahwa terdapat sebanyak 94 variasi nukleotida dari 13 sekuen. Adanya variasi dikarenakan sekuen yang disejajarkan bukan hanya dari satu spesies. Sekuen *P. acuminata* memiliki nukleotida yang sama dengan sampel *P. acuminata* (IV.C.78). Hal ini diperkuat oleh komposisi nukleotida yang memiliki perbedaan nukleotida 1 bp karena pada sampel *P. acuminata*

(IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor memiliki panjang sekuen yang selisih 1 bp. Hasil jarak genetik menunjukkan nilai 0,000 yang dimiliki oleh *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856). Semakin kecil nilai jarak genetik yang dihasilkan maka semakin dekat hubungan kekerabatan antar organisme begitu pula sebaliknya, semakin besar nilai jarak genetik maka semakin jauh hubungan kekerabatan antar organismenya (Irawan *et al.*, 2016; Tallei, *et al.*, 2016).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor melalui pendekatan morfologi terverifikasi masuk ke dalam jenis *P. acuminata* var. *acuminata*. Hal ini ditunjukkan dengan kesamaan karakter yang dimiliki oleh sampel sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dengan *P. acuminata* var. *acuminata* disertai dengan hasil dendogram yang mengelompok dengan *P. acuminata* var. *acuminata*. Dari pendekatan morfologi yang dilakukan masih terdapat keraguan seperti pada pengamatan trikoma di bagian abaksial daun, karena pada karakterisasi morfologi spesimen yang diamati dari herbarium. Untuk mendukung pendekatan morfologi dilakukan pula pendekatan molekuler. Dari hasil pendekatan molekuler yang dilakukan menunjukkan bahwa sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor merupakan spesies dari *P. acuminata*. Hal ini membuktikan

bahwa verifikasi menggunakan pendekatan morfologi dan pendekatan molekuler dapat mengidentifikasi serta dapat memverifikasi sampel *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakter morfologi dari *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor memiliki ciri khusus yaitu susunan daunnya *distichous*, bentuk daun *elliptic*, ujung daun *acuminate*, pangkal daun *cuneate*, tulang daun sekunder tipis, abaksial daun berwarna putih keperakan, adaksial daun berwarna hijau *glabrous*, tepi daun rata, permukaan petiol dan permukaan tangkai bunga memiliki rambut. Karakteristik sekuen dari *P. acuminata* menggunakan ITS memiliki panjang sekuen 740 bp dengan komposisi nukleotida C dan G yang tinggi dibandingkan dengan komposisi nukleotida A dan T;
2. *Payena acuminata* (Blume) Pierre (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor secara pendekatan morfologi dan molekuler masuk kedalam *P. acuminata* pada umumnya sehingga *P. acuminata* terverifikasi benar dalam proses identifikasi;
3. Variasi karakter morfologi yang membedakan *Payena acuminata* (Blume) Pierre (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dengan *P. acuminata* lainnya adalah warna abaksial daun yang berwarna putih keperakan sedangkan *P. acuminata* pada umumnya memiliki abaksial daun

berwarna kecoklatan yang merupakan bentuk variasi dari spesies;

4. Posisi sampel *Payena acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor dalam pohon filogenetik menunjukkan mengelompok dengan *P. acuminata* (KF686292 dan HF542856) membentuk satu klad dengan nilai bootstrap tinggi yaitu 100.

B. SARAN

Berdasarkan keterbatasan penelitian, saran peneliti untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. *P. acuminata* (IV.C.78) koleksi Kebun Raya Bogor perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengamatan trikoma menggunakan mikroskop SEM agar memperkuat kesimpulan dan proses verifikasi;
2. Spesies tumbuhan yang dijadikan pembanding sebaiknya memiliki organ vegetatif dan organ generatif yang lengkap. Herbarium pembanding sebaiknya dalam kondisi utuh, tidak rusak dan berasal dari wilayah yang sama;
3. Informasi sampel seperti persebaran dan parameter lingkungan perlu ditambahkan untuk melengkapi dan memperkuat data morfologi sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jazairi, & Jabir, S. A. B. (2007). *Tafsir Al-Quran Al-Aisar*. Darus Sunnah Press.
- Algarni, A. A. (2022). Molecular Identification and Phylogenetic Analysis of *Aloe shadensis* From Saudi Arabia Based on *matK*, *rbcL* and *ITS* DNA Barcode Sequence. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1125–1133. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.053>
- Ambardini, S., Indrawati, I., & Ratnaeni, R. (2015). Karakter Trikoma Daun Tanaman Jati (*Tectona grandis* L.) yang Ditanam pada Tanah Pascatambang Emas Bombana dengan Variasi Dosis Pupuk Kandang Kambing. *Biowallacea*, 2(1), 113–125.
- Andriani, T. (2016). *Aplikasi Metode UPGMA untuk Identifikasi Kekerabatan Jenis Virus dan Penyebaran Epidemi Ebola Melalui Pembentukan Pohon Filogenetik*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Arfan, M. R. (2022). *Keragaman Genetik Flacourtia rukam Zoll & Moritzi Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Karakter Morfologi dan Molekuler*. UIN Walisongo Semarang.
- Ariati, S. R., Ratna, S. A., Ikar, S., Ade Yusup. Y., Arief, S., Dian, S., & Didit, O. P. (2019). *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Bogor Botanic Gardens*.
- Arimbawa, W. P. (2016). Dasar-Dasar Agronomi. In *Bahan Ajar Mata Kuliah*. Universitas Udayana.
- Armstrong, K. E., Stone, G. N., Nicholls, J. A., Valderrama Escallón, E., Anderberg, A. A., Smedmark, J., Gautier, L., Naciri, Y., Milne, R., & Richardson, J. E. (2014a). Patterns Of Diversification Amongst Tropical Regions Compared: A Case Study In Sapotaceae. *Frontiers in Genetics*, 5(SEP). <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00362>

- Armstrong, K. E., Stone, G. N., Nicholls, J. A., Valderrama Escallón, E., Anderberg, A. A., Smedmark, J., Gautier, L., Naciri, Y., Milne, R., & Richardson, J. E. (2014b). Patterns of Diversification Amongst Tropical Regions Compared: A Case Study in Sapotaceae. *Frontiers in Genetics*, 5(SEP). <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00362>
- Backer, A and Van Den Brink, B. (1965). *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.
- Baldisserotto, Ferroni, Medici, Pagnoni, Pellizzari, Fasulo, Fagioli, Bonora, & Pancoldi. (2004). Specific Intra-tissue Responses to Manganese in the Floating Lamina of *Trapa natans* L. *Plant Biol*, 6, 578–589.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Martin, F., Campbell, C. S., Donoghue, M. J., Its, T. H. E., Of, R., Baldwin, B. G., Source, A. V., Martin, O. F., On, E., Christopher, A., Ribosomal, N., Michael, D. N. A., Source, A. V., Ji, O. F., Porter, M., & Donoghue, P. M. J. (1995). The its Region of Nuclear Ribosomal DNA : A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny Source : *Annals of the Missouri Botanical Garden* , Vol . 82 , No . 2 (1995) , pp . 247-277
Published by : Missouri Botanical Garden Press Stable
URL : [http://. Annals of the Missouri Botanical Garden, 82\(2\), 247-277](http://. Annals of the Missouri Botanical Garden, 82(2), 247-277).
- Bangol, I., L. I. M., & M. Kumaunang. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule*). Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE*, 3(2), 113–119.
- Bartish, I. V, Swenson, U, Jerome, M., & Anderberg, A. A. (2005). Phylogenetic Relationships Among New Caledonian Sapotaceae (Ericales): Molecular Evidence for Generic Polyphyly and Repeated Dispersal. *American Journal of Botany*, 92(4), 667–673. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.4.667>

- Bruggen, V. (1958). Revision of the Sapotaceae of the Malaysian area in a wider sense. XV. Payena A. De Candolle. *Blumea: Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 9(1), 89–138. file:///Users/pngfri/Documents/Sapotaceae Library_P Wilkie/Bruggen van 1958-Payena.pdf
- Cahyarini, Dewi, R., Yunus, A., & Purwanto, E. (2004). Identifikasi Keragaman Genetik Beberapa Varietas Lokal Kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. *Agrosains*, 6, 79–83.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., & Mitchell, L. G. (2003). *Biologi. Jilid 2. Edisi. Kelima*. Erlangga.
- Cavalli, & Balfourier. (1997). Phylogenetic Analysis: Model And Estimation Procedures. *Am. J. Human. Genet*, 19, 122–257.
- Chantaranothai, P. (1967). *Sapotaceae*. Khon Kaen.
- Chantarnothai. (1999). *The Sapotaceae of Thailand*. file:///Users/pngfri/Documents/Sapotaceae Library_P Wilkie/Chantarnothai 1999.pdf
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., & Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Chi, M., Park, S., & Lee, Y. (2009). A Quick And Safe Method For Fungal DNA Extraction. *Plant Pathol.*, 25(1), 108–111.
- Claverie, J. M., & Notradame, C. (2007). *Bioinformatic for Dumies* (I. Indianapolis (ed.)). Wiley Publishing.
- Darmono. (1996). Analisis Keanekaragaman Genetik Tanaman Dengan Teknik Molekuler. *Hayati*, 7–11.
- De Faria, A. D., Pirani, J. R., Ribeiro, J. E. L. D. S., Nylander, S.,

- Terra-Araujo, M. H., Vieira, P. P., & Swenson, U. (2017). Towards A Natural Classification Of Sapotaceae Subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 185(1), 27–55. <https://doi.org/10.1093/BOTLINNEAN/BOX042>
- Ellis, B., Daly, D. C., Hickey, L. J., Johnson, K. R., Mitchell, J. D., Wilf, P., & Wing, S. L. (2009). *Manual of Leaf Architecture*. Cornell University Press.
- F.S.P.NG. (1972). *Tree Flora Of Malaya "Sapotaceae."* Forest Department Ministry of Agriculture and Land.
- Fitch, W., & Margoliash, E. (1967). Construction of Phylogenetic Trees. *Science*, 155, 279–284.
- Fitriya, R. T., Ibrahim, M., & Lisdiana, L. (2015). Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Lentera Bio*, 4(1), 87–92.
- GBIF. (2022). *Payena acuminata (Blume) Pierre in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset.*
- Gonzalez, M. A., Baraloto, C., Engel, J., Mori, S. A., Pétronelli, P., Riéra, B., Roger, A., Thébaud, C., & Chave, J. (2009). Identification of Amazonian Trees with DNA Barcodes. *PLoS ONE*, 4(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007483>
- Gonzalez, M., C, B., J, E., SA, M., P, P., B, R., A, R., And, T. C., & J, C. (2008). Identification of Amazonian Trees with DNA Barcodes. *PLoS One*, 4, 7483.
- Gusmiati, L. H. (2018). *Dinamika Evolusi dan Filogeografi Pisang Raja (Musa spp.) di Wilayah Jawa Timur, Jawa Tengah, dan Jakarta Berdasarkan Daerah ITS (Internal Transcribed Spacer)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Hall BG. (2001). *Phylogenetic Trees Made Easy: A How To Manual For Molecular Biologists*. Sinaeur Associates.
- Hardiyanto, H., Mujiarto, E., & Sulasmi, E. (2007). Kekerabatan Genetik Beberapa Spesies Jeruk Berdasarkan Taksonometri. *Jurnal Hortikultura*, 17(3), 98555.
- Hartog, M. . (1878). On the Floral Structure and Affinities of Sapotaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 16(145), 65–72.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., SL, B., & JR, D. (2003). Biological Identifications Through DNA Barcodes. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 270, 313–321.
- Hickey, L. J. (1973). Classification of The Architecture of Dicotyledonus. *Amer. J. Bot*, 60(1), 17–33.
- Hidayat, T., Kusumawaty, D., Din, Y., M, A., & D, M. (2008). Analisis Filogeneti Molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) Menggunakan Urutan Basa DNA daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *Matematika & Sains*, 13(1), 16–21.
- Hidayat, T., & Pancoro, A. (2016). Ulasan Kajian Filogenetika Molekuler dan Penanannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), 35–40.
- Hollingsworth PM, G. S. L. D. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PlosOne*, 19254.
- Imani. (2005). *Tafsir Nurul Quran*. Al-Huda.
- Indi, D. (2011). Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah EVolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1–10.
- Irawan. (2013). *Karsinologi Dengan Penjelasan Deskriptif dan Fungsional*. Airlangga University Press.

<https://books.google.co.id/books?id=Lh3I>

- Irawan, P. D., Tallej, T. E., & Kolondam, B. J. (2016). Analisis Sekuens Dan Filogenetik Beberapa Tumbuhan Syzygium (Myrtaceae) Di Sulawesi Utara Berdasarkan Gen mat K Sequences And Phylogenetic Analysis Of Syzygium (Myrtaceae) Plants In North Sulawesi Based On mat K Gene. *Jurnal Ilmiah Sains*, 16, 42–50.
- IUCN. (2022). *The IUCN Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org>.
- Kochzius, M., Seidel, C., Antoniou, A., Botla, S. K., Campo, D., Cariani, A., Vazquez, E. G., Hauschild, J., Hervet, C., Hjörleifsdottir, S., Hreggvidsson, G., Kappel, K., Landi, M., Magoulas, A., Marteinsson, V., Nölte, M., Planes, S., Tinti, F., Turan, C., ... Blohm, D. (2010). Identifying Fishes Through DNA Barcodes And Microarrays. *PLoS ONE*, 5(9), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012620>
- Kolondam, B. J., Lengkong, E., J. Polii, M., Pinaria, A., & Runtunuwu, S. (2012). Barcode DNA berdasarkan Gen *rbcl* dan *matK* Anggrek Payus Limondok (*Phaius tancarvilleae*) (DNA Barcode of Payus Limondok Orchid (*Phaius tancarvilleae*) Based on the *rbcl* and *matK* genes). *Jurnal Bios Logos*, 4(2). <https://doi.org/10.35799/jbl.2.2.2012.1041>
- KP-KIAT. (2006). *Buku Panduan Hak Kekayaan Intelektual*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Kress, W. J., & Ericson, D. L. (2007). A Two Locus Global DNA Barcode for Land Plants: the Coding *rbcl* Gene Complements the Noncoding *trnH-psbA* Spacer Region. *PLoS ONE*.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & H., D. J. (2005). Use of DNA Barcodes to Identify Flowering Plants. *PNAS*, 102, : 8369-8374.

- Lam. (1925). *Bulletin Du Jardin Botanique*. file:///Users/pngfri/Documents/Sapotaceae Library_P Wilkie/Lam 1925.pdf
- Latifa, R. (2015). Karakter Morfologi Daun Beberapa Jenis Pohon Penghijauan Hutan Kota Di Kota Malang. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*, 667–676.
- Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. (2009). *The Phylogenetic Handbook; Practical Approach To Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge University Press.
- Lestari, D. A., A. Rodiyati, & H. (2018). Filogenetik Jenis_Jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non-Coding Sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3, 1–7.
- Magandhi, M., & Hariri, M. R. (2020). *Variabilitas Genetik Coffea canephora Pierre ex A . Froehner Berdasarkan Sekuen Internal Transcribed Spacer*. *September*, 286–293.
- Maulida, A. (2016). *Serapan Logam Pb pada Tanaman di Taman Kota Martha Tiahahu, Jakarta Selatan*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Morales, F., Abadía, A., Abadía, J., Montserrat, G., & Gil-Pelegrín, E. (2002). Trichomes and Photosynthetic Pigment Composition Changes: Responses of *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp. and *Quercus coccifera* L. to Mediterranean Stress Conditions. *Trees - Structure and Function*, 16(7), 504–510. <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0195-1>
- Muttaqien, M. I., & Rahmawati, D. (2019). Karakter Kualitatif dan Kuantitatif Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) terhadap Cekaman Salinitas (NaCl). *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 3(1), 42–53. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v3i1.94>

- Muzzazinah. (2017). Metode Filogenetik pada Indigofera. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi, Rifai 2011*, 25–40. <http://seminar.uny.ac.id/sembioun%0Ay2017/prosiding/metode-filogenetik-pada%0A-indigofera>
- Naturalis Biodiversity Center (NL) - Botany, (2022). <https://doi.org/https://doi.org/10.15468/ib5ypt>
- Newton, C. R., & Graham., A. (1994). *PCR*. Bios Scientific Publisher.
- Orhan, N. (2021). *Laboratory Guidance Document. December*. www.botanicaladulterants.org
- Pennington, T. D. (1991). *The Genera Of Sapotaceae*. New York Botanical garden.
- Pennington, T. D. (2004). *Sapotaceae*. In: Kubitzki, K. (eds) *Flowering Plants · Dicotyledons. The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-662-07257-8_41
- Pereira, J. T. (1997). Five New Species Of Payena (Sapotaceae) And Notes On The Genus in Borneo. *Kew Bulletin*, 52(4), 903–922. <https://doi.org/10.2307/4117818>
- Permadi, I. W. A. D. I., Gunadi, I. G. A., & Sukewijaya, I. M. (2016). Identifikasi Karakter Morfologi dan Agronomi Tanaman Gonda (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn) di Kabupaten Jembrana, Bali. *Agrotrop: Journal on Agriculture Science*, 5(1), 43–54.
- Perwitasari, D. A. G., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., & Su'udi, M. (2020). DNA Barcoding of Medicinal Orchid *Dendrobium discolor* Lindl. Tanimbar Using *rbcL* and *ITS* genes. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 31(1), 8.

<https://doi.org/10.21082/bullittro.v31n1.2020.8-20>

POWO. (2022). *The International Plant Names Index and World Checklist of Vascular Plants 2022*.

Prehadi, P., Sembiring, A., Kurniasih, E. M., Rahmad, R., Arafat, D., Subhan, B., A., & Madduppa, H. H. (2015). DNA Barcoding and Phylogenetic Reconstruction of Shark Species Landed in Muncar Fisheries Landing Site in Comparison With Southern Java Fishing Port. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 16(1).

Qur'an Kemenag. 2022. Surah Al-An'am ayat 99. <https://quran.kemenag.go.id/quran/per-ayat/surah/6?from=1&to=165>

Rahayu, D. ., & Jannah, M. (2019). *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia*. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.

Richardson, J. E., Bakar, A. M., Tosh, J., Armstrong, K., Smedmark, J., Anderberg, A. A., Slik, F., & Wilkie, P. (2014). The Influence Of Tectonics, Sea Level Changes And Dispersal On Migration And Diversification Of Isonandreae (Sapotaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 174(1), 130–140. <https://doi.org/10.1111/boj.12108>

Sabiq, S. (2013). *Fiqhus Sunnah : Jilid IV*. Dar Al Fath.

Saitou, N. and Nei, M. (1987). The Neighbor-Joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–425.

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. (1997). DNA Sequencing With Chain-Terminating Inhibitors. *Proc Nat Acad Sci. U. S. A.*, 74, 5463–5467.

Septiadi, L. (2019). *Analisis Filogenetik Dan Estimasi Waktu Divergensi Amolops Cope, 1865 Sesnu Lato Paparan Sunda*

Secara In Silico (Vol. 2). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Setiyawan, S. A., Budiharjo, A., & Kusumaningrum, H. P. (2015). Seleksi Primer *LCO* - *HCO*, Primer *bird-f1* - *HCO* Dan Primer *bch* - *bcl* Untuk Amplifikasi Gen *COI* DNA Mitokondria Itik Magelang (*Anas javanica*). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 16(2), 83. <https://doi.org/10.14710/bioma.16.2.83-89>
- 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. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>
- Sharon, I., Birkland, A., Chang, K., El-Yaniv, R., & Yona, G. (2005). Correcting BLAST E-Values For Low-Complexity Segments. *Journal of Computational Biology*, 12(7), 980-1003. <https://doi.org/10.1089/cmb.2005.12.980>
- Shaw. (2000). Molecular Phylogeography and Cryptic Speciation in The Mosses, *Mielichhoferia Elongata* and *M. mielichhoferiana* (Bryaceae). *Molecular Ecology*, 9, 595-608.
- Shaw, A. J., McDaniel, S. F., Werner, O., & Ros, R. M. (2002). Invited essay: New Frontiers In Bryology And Lichenology. Phylogeography And Phylodemography. *Bryologist*, 105(3), 373-383. [https://doi.org/10.1639/0007-2745\(2002\)105\[0373:pap\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1639/0007-2745(2002)105[0373:pap]2.0.co;2)
- Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. (1973). *Numerical Taxonomy*. Freeman.
- Stuessy, T. F. (1990). *Plant Taxonomy: The Systematic Evolution Of Comparative Data*. Columbia University Press.

- Sun, Y., Skinner, D. Z., Liang, G. H., & Hulbert, S. H. (1994). Phylogenetic Analysis Of Sorghum And Related Taxa Using *Internal Transcribed Spacers* Of Nuclear Ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, 89(1), 26–32. <https://doi.org/10.1007/BF00226978>
- Sunaryo, W. (2015). Aplikasi DNA Barcoding untuk Analisis Keragaman Genetik Lai-Durian (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) Asal Kalimantan Timur. *Seminar Nasional Masy Biod IV Indonesia*, 1273–1277.
- Sutisna, Kalima, & Purnadjaya. (1998). Pedoman Pengenalan Pohon Hutan di Indonesia. In *PROSEA*. PROSEA.
- Swenson U, And, B. I., & J, M. (2007). Phylogeny, Diagnostic Characters and Generic Limitation of Australasian Chrysophylloideae (Sapotaceae, Ericales): Evidence From ITS Sequence Data and Morphology. *Cladistics*, 23, 201–228.
- Swenson U, Richardson, J., & Bartish, I. (2008). Multigene Phylogeny Of The Pantropical Subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae): Evidence of Generic Polyphyly And Extensive Morphological Homoplasy. *Cladistics*, 24, 1006–1031.
- Tallei, T.E., Rembet, R. E., Pelealu, J. J., & Kolondam, B. J. (2016). Sequence Variation and Phylogenetic Analysis of *Sansevieria trifasciata* (Asparagaceae). *Bioscience Research*, 13(1), 01–07.
- Timothy, U., & Gemma, B. (2015). *The Kew Tropical Plant Families Identification Handbook by Timothy M. A. Utteridge, Gemma Bramley (z-lib.org).pdf*.
- Tjitrosoepomo, G. (2009). *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press.
- Vivas, C. V., Moraes, R. C. S., Alves-Araújo, A., Alves, M., Mariano-

Neto, E., van Den Berg, C., & Gaiotto, F. A. (2014). DNA Barcoding In Atlantic Forest Plants: What Is The Best Marker For Sapotaceae Species Identification? *Genetics and Molecular Biology*, 37(4), 662–670. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572014005000019>

Waterman, M. S., & Smith, T. F. (1981). Identification of Common Molecular Subsequences. *Journal of Molecular Biology*, 147, 195–197.

Yatim. (1991). *Genetika Edisi IV*. Tarsito.

LAMPIRAN



Gambar Lampiran 1 Dokumentasi kegiatan selama penelitian skripsi. A-C (pengambilan sampel; pembuatan herbarium; penggerusan sampel), D-F (isolasi DNA menggunakan kit TianGen; PCR *ITS*; Elektroforesis dan visualisasi), G (pengamatan herbarium)



Gambar Lampiran 2 Herbarium BO-151385



Gambar Lampiran 3 Enam spesimen herbarium pembanding.
Atas (*P. acuminata* var. *acumnata*); Bawah (*P. acuminata* var.
pulchra)

Lampiran 4 Sekuen *Payena acuminata*#4414550_ *P. acuminata*_ITS_F

-----GCTGCCGGCGACGTCCGGAGAAGT
 CCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG
 TTTCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCC
 AAGCAGAACGACCCGCGAACTTGTATAAGCAACCACTGGGGGTC
 CTCGTGCCCCTCGCCAGGTGCGCTCTTGAGCCGCATTTCCCTTGGC
 TAAAAACAAACCCCGACGCGAATTGCGTCAAGGAACTTAACAA
 GAGGAGCGCCCCCGCTCTCGTTCGCGAGTAAAGTTAGCGGGGG
 GGAGCATTCTTCATGAGCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCT
 CGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
 TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAA
 GTTGCGCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGGCG
 TCTCACAGTGCCTCGCCCCCACCCTGTGCCCGCAAAGGGTTCA
 TAGGTTGAGGGGGCGGATTTTGGCCCCCGTGTGCCCCAGTTCCG
 CGGTCCGCCTAAATACAAGTCTCAGGGCGATGAACGTCACGACG
 AGTGGTGGATGTGATACCGTTGCGTCATGTCGTGCACGTCTCGA
 CGCCCCGGTTGACCCTAAAGCACCGTTTTACGGGGCCTCGGT
 CGCGACCCAGGTCAGGCGGGATTACCCGCTGAGTTTAAGCATA
 TCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTTACAAGGATTCCTTAGTA
 ACGGCGAGC

#4414551_ *P. acuminata*_ITS_R

GGTGAAGTGTTCGGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTTCGCTGCCGG
 CGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGG
 AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATC
 ATTGTCGAAACCTGCCAAGCAGAACGACCCGCGAACTTGTATAA
 GCAACCACTGGGGGTCTCGTGCCCCCTCGCCAGGTGCGCTCTTG
 AGCCGCATTTCCCTTGGCTAAAAACAAACCCCGACGCGAATTGCG
 TCAAGGAACTTAACAAGAGGAGCGCCCCCGCTCTCGTTCGCG
 AGTAAAGTTAGCGGGGGGAGCATTCTTCATGAGCATAACGACT

CTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAG
 CGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCAT
 CGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGG
 GCACGCCTGCCTGGGCGTCTCACAGTGCGTCGCCCCCACCCTG
 TGCCCGCAAAGGGTTCATAGGTTGAGGGGGCGGATTTTGGCCCC
 CCGTGTGCCCCAGTTCGCGGTCGGCCTAAATACAAGTCTCAGGG
 CGATGAACGTCACGACGAGTGGTGGATGTGATACCGTTGCGTCA
 TGTCGTGCACGTCTCGACGCCCCGGGTTGACCCTAAAGCACCGT
 TTTCACGGGGCCTCGGTCGCGACCCCAGGTCAGGCGGGATTACC
 CGCTGAGTTTAAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAA-----

#contiq

GGTGAAGTGTTCGGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTGCTGCCGG
 CGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGG
 AGAAGTCGTAACAAGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC
 ATTGTGCAAACCTGCCAAGCAGAACGACCCGCGAACTTGTATAA
 GCAACCACTGGGGTCCCTCGTGCCCTCGCCAGGTGCGCTCTTG
 AGCCGCATTTCCCTTGGCTAAAAACAAACCCCGACGCGAATTGCG
 TCAAGGAACTTTAACAAGAGGAGCGCCCCCGCTCTCGTTGCGG
 AGTAAAGTTAGCGGGGGGAGCATTCTTCATGAGCATAACGACT
 CTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAG
 CGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCAT
 CGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGG
 GCACGCCTGCCTGGGCGTCTCACAGTGCGTCGCCCCCACCCTG
 TGCCCGCAAAGGGTTCATAGGTTGAGGGGGCGGATTTTGGCCCC
 CCGTGTGCCCCAGTTCGCGGTCGGCCTAAATACAAGTCTCAGGG
 CGATGAACGTCACGACGAGTGGTGGATGTGATACCGTTGCGTCA
 TGTCGTGCACGTCTCGACGCCCCGGGTTGACCCTAAAGCACCGT
 TTTCACGGGGCCTCGGTCGCGACCCCAGGTCAGGCGGGATTACC
 CGCTGAGTTTAAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTTA
 CAAGGATTCCTTAGTAACGT

Tabel Lampiran 1. Spesimen Herbarium *Payena acuminata*

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
1.	Jawa	<i>P. suringariana</i> - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> 1927- <i>P. sericea</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151387
2.		<i>P. suringariana</i> - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> 1927- <i>P. sericea</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092053
3.		<i>P. suringariana</i> Burck var. <i>junghuhuiana</i> - <i>P. sericea</i> (Koordes 1912) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151405 No col 10166
4.		<i>P. suringariana</i> Burck var. <i>junghuhuiana</i> - <i>P. sericea</i> (Koordes, 1912) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151406 No col 10166
5.		<i>P. suringariana</i> Burck - <i>P. sericea</i> (Koordes, 1912) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092044 No col 10173

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
6.	<i>P. suringariana</i> Burck (Koordes, 1905) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)		var. <i>acuminata</i>	0092043
7.	<i>P. suringariana</i> Burck (Koordes, 1912) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)		var. <i>acuminata</i>	0092046 Djember
8.	<i>P. suringariana</i> Burck (Koordes, 1905) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam, 1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)		var. <i>acuminata</i>	0092048
9	<i>P. sericea</i> (R.wind. 1919) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam,1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen 1955)		var. <i>acuminata</i>	0092251 Kolektor R.win (4018) pekalongan
10	<i>P. sericea</i> (WF.winckel) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam,1927) - <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen 1955)		var. <i>acuminata</i>	0092252 Kolektor WF. Winckel (248) TJidadap, tjibebeer

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
11		<i>P. sericea</i> – <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam,1927) – <i>P.</i> <i>acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>acuminata</i>	151384 Pekalongan
12		<i>P. sericea</i> – <i>P. sericea</i> var. <i>typical</i> (Lam,1927) – <i>P.</i> <i>acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0091751
13		<i>p. junghuiana</i> Burck – <i>P. sericea</i> var. <i>pulchra</i> (Lam,1927) - <i>P.</i> <i>acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151365 s.n
14		<i>P. sericea</i> (Blume, 1923) – <i>P. sericea</i> (Lam,1927) – <i>P.</i> <i>acuminata</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092238 depok
15		<i>Mimusops acuminata</i> (Blume) – <i>P. sericea</i> (Lam,1923-1927) – <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151350
16		<i>P. suringariana</i> var. <i>junghuiana</i> (Houter)- <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam,1924,1927) – <i>P.</i> <i>acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0091753

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
17		<i>P. junghuiana</i> (S.H.K) - <i>P. sericea</i> var. <i>typica</i> (Lam,1927)- <i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0091750
18		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092050
19		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092049
20		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092055
21		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151407 (batoehideung)
22		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092250
23		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092241
24		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092256 (Jepara)
25		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151385
26		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0091752 (buitenzorg)
27		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092240

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
28		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092253
29		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092249
30		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	151403
31		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092248
32		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092047
33		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092045
34		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0092255
35		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090663
36		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail, 1986)	var. <i>acuminata</i>	0092904
37		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092906
38		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail, 1986)	var. <i>acuminata</i>	0092903
39		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail, 1986)	var. <i>acuminata</i>	0092905

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
40		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090667
41		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090668 (10174)
42		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090669 (15230)
43		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090666 (23989)
44		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090665 (11103) bandjarnegara, banjoemas
45		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090671 (djember)
46		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090670 (djember)
47		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092900 (biotenzorg)
48		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092929 (tjiandjoer)
49		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092923
50		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092921
51		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092902

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
52		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail, 1986)	var. <i>acuminata</i>	0090664
53		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail, 1986)	var. <i>acuminata</i>	0092882 (tjidadap)
54		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092899 (tjidadap)
55		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092926
56		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092925
57		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0091176 (palembang)
58		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092884
59		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>pulchra</i>	173467
60		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092924
61		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092880
62		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092901
63		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092907

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
64		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092927 (djember)
65		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>pulchra</i>	0092922 (djember)
66		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092928 (soekaboemi)
67	Sumatra	<i>P. acuminata</i>	var. <i>acuminata</i>	1428513 (herbarium leiden)
68		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	1484650
69		<i>P. acuminata</i>	var. <i>acuminata</i>	0090238
70		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	0091756
71		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	0091754
72		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	0091755
73		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	1953099
74		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>pulchra</i>	151390
75		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>acuminata</i>	0093488
76		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>pulchra</i>	151389
77		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>pulchra</i>	0093489

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
78		<i>P. sericea</i> var. <i>pulchra</i> - <i>P.</i> <i>acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>pulchra</i>	0093487
79		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen,1955)	var. <i>acuminata</i>	0093485
80		<i>P. acuminata</i> var. <i>acuminata</i> (Bruggen, 1955)	var. <i>acuminata</i>	0093486
81		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	1958236 (riau)
82		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	1958237 (riau)
83		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	0092914
84		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	0092913
85		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	1964712
86		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>acuminata</i>	1964711
87		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i>	var. <i>pulchra</i>	0092920
88		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092915
89		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092917
90		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0090676

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
91		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0091181
92		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092918
93		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092873
94		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092912
95		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092911
96		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0092909
97		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0091179
98		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0091177
99		<i>P. acuminata</i> var. <i>typica</i> (Ismail,1986)	var. <i>acuminata</i>	0091178
100		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092822
101		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092816
102		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092815

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
103		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092813
104		<i>P. acuminata</i>	var. <i>pulchra</i>	1981103
105		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092817
106		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0093709
107		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090644
108		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090647
109		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090649
110		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092821
111		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092814
112		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092812
113		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090645
114		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0094716

Tabel Lampiran 1. Lanjutan

No	Asal	Label	Identifikasi	Ket.
115		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090648
116		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092811
117		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092810
118		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092818
119		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092819
120		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0092820
121		<i>P. acuminata</i> var. <i>pulchra</i> (Ismail, 1986)	var. <i>pulchra</i>	0090646

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS DIRI

1. Nama Lengkap : Nur Izza Navida
2. Tempat & Tgl. Lahir : Kendal, 27 November
2001
3. Alamat Rumah : Taman Gede RT 05 RW 01,
Kec. Gemuh, Kab. Kendal
4. HP : 0895346584716
5. E-mail : izzanavida@gmail.com

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. Pendidikan Formal
 - a. TK Pertiwi Kendal
 - b. SDN 2 Taman Gede Kendal
 - c. MTs Nu Nurul Huda Semarang
 - d. SMA N 1 Pegandon
2. Pendidikan Non Formal
 - a. TPQ Al-Furqon Taman Gede
 - b. PP Al-Ishlah Mangkang Kulon Semarang