

**Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume
Koleksi Kebun Raya Bogor**

Skripsi



Elisabeth Lelu Lagamakin

31180189

DUTA WACANA

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2022

**Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume
Koleksi Kebun Raya Bogor**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
(S.Si.)

pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi,
Universitas Kristen Duta Wacana



Elisabeth Lelu Lagamakin

31180189

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2022

LEMBAR PERSETUJUAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus litoralis*
Blume Koleksi Kebun Raya Bogor

Nama Mahasiswa : Elisabeth Lelu Lagamakin

Nomor Induk Mahasiswa : 31180189

Hari/Tgl Ujian : 8 Februari 2022

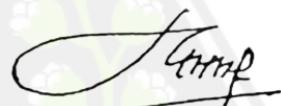
Disetujui oleh :

Pembimbing I,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
NIK. 904 E 146

Pembimbing II,



Irfan Martiansyah, M.Si.
NIP. 198503032019021002

Ketua Program Studi,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
NIK. 904 E 146

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elisabeth Lelu Lagamakin
NIM : 31180189
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume Koleksi Kebun Raya Bogor”

Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 6 Juli 2022

Yang menyatakan



Elisabeth Lelu Lagamakin
NIM. 31180189

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

KARAKTERISASI MOLEKULER *Dipterocarpus littoralis* Blume KOLEKSI
KEBUN RAYA BOGOR

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

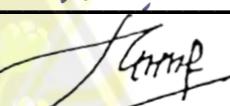
ELISABETH LELU LAGAMAKIN
31180189

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 8 Februari 2022

Nama Dosen

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
(Dosen Pembimbing I/ Ketua Tim Pengaji)
2. Irfan Martiansyah, M.Si.
(Dosen Pembimbing II/ Dosen Pengaji II)
3. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.
(Dosen Pengaji III)

Tanda Tangan



Yogyakarta, 11 April 2022

Disahkan oleh:

Dekan,



Drs. Guruh Prihatmo, MS.

NIK. 874 E 055

Ketua Program Studi,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

NIK. 904 E 146

LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elisabeth Lelu Lagamakin

NIM : 31180189

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume Koleksi Kebun Raya Bogor”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 8 Februari 2022



Elisabeth Lelu Lagamakin

31180189

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat, rahmat dan kasih-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi berjudul **Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume Koleksi Kebun Raya Bogor**. Penulis dengan rasa hormat dan rendah hati mengucapkan terima kasih kepada semua pihak, khususnya :

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. selaku dosen pembimbing I atas dukungan, ilmu dan kesabaran kepada penulis selama proses penyelesaian skripsi.
2. Irfan Martiansyah, M.Si. selaku dosen pembimbing II atas ilmu dan dukungan kepada penulis selama proses penyelesaian skripsi.
3. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si. selaku pembimbing magang dan pengaji skripsi atas ilmu dan dukungannya kepada penulis.
4. Kepala Pusat Riset Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, Badan Riset dan Inovasi Nasional atas kesempatan yang diberikan kepada penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Treub.
5. Ketua Tim Riset *Global Tree Assessment* atas izin yang diberikan kepada penulis untuk menggunakan sampel dan bahan penelitiannya sebagai material penelitian bagi penulis.
6. Dosen, staf dan laboran Fakultas Bioteknologi UKDW yang telah membimbing dan membagikan ilmu yang berharga selama proses perkuliahan.
7. Orang tua terkasih bapak Marius Kepitang Lagamakin dan mama Florensia Balok, kakak Asti, kakak Elpi, kakak Foni, kakak Nelson, serta keponakan Rafael dan Neysa yang selalu memberikan dukungan, cinta, motivasi, penghiburan dan doa kepada penulis.
8. Sahabat Ester, Erika dan Vinny yang selalu memberikan keceriaan, motivasi dan dukungan kepada penulis serta Royen yang selalu memberikan dukungan moril kepada penulis hingga penulisan skripsi ini diselesaikan.
9. Teman-teman Bioteknologi angkatan 2018 yang memberikan keceriaan dan pengalaman yang tidak terlupakan selama penulis menempuh studi.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat dituliskan satu per satu atas bantuan, kritik, motivasi serta dukungan kepada penulis.

Semoga tulisan ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan mendorong upaya pelestarian tumbuhan hutan demi kelestarian flora endemik Indonesia.

Yogyakarta, 8 Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN SAMPUL DEPAN | i |
| HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN NASKAH SKIPSI | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| ABSTRAK | xii |
| <i>ABSTRACT</i> | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang Permasalahan | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume | 4 |
| 2.1.1. Deskripsi dan distribusi <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume | 4 |
| 2.1.2. Ancaman utama dan upaya konservasi | 5 |
| 2.2. DNA Barcoding | 6 |
| 2.2.1. <i>rbcL</i> | 7 |
| 2.2.2. <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> | 8 |
| 2.2.3. ITS | 9 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 10 |
| 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian | 10 |
| 3.2. Bahan | 10 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3. Alat | 11 |
| 3.4. Cara Kerja..... | 11 |
| 3.4.1. Preparasi sampel..... | 11 |
| 3.4.2. Ekstraksi DNA..... | 12 |
| 3.4.3. Elektroforesis..... | 12 |
| 3.4.4. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) | 14 |
| 3.5. Analisis Molekuler | 15 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 16 |
| 4.1. Hasil Analisis Molekuler | 16 |
| 4.1.1. Hasil ekstraksi DNA | 16 |
| 4.1.2. Hasil amplifikasi DNA | 17 |
| 4.2. Pembuatan <i>Contig</i> | 18 |
| 4.3. BLAST NCBI..... | 19 |
| 4.3.1. <i>rbcL</i> | 20 |
| 4.3.2. <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> | 23 |
| 4.3.3. ITS | 24 |
| 4.4. Analisis Filogenetik | 26 |
| 4.4.1. Dendrogram <i>rbcL</i> | 26 |
| 4.4.2. Dendrogram <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> | 27 |
| 4.4.3. Dendrogram ITS | 29 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | 31 |
| 5.1. Kesimpulan..... | 31 |
| 5.2. Saran | 31 |
| DAFTAR PUSTAKA | 32 |
| LAMPIRAN | 37 |

DAFTAR TABEL

| Nomor | Judul Tabel | Halaman |
|--------------|---|----------------|
| Tabel 1. | Taksonomi <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume | 5 |
| Tabel 2. | Koleksi <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume di Kebun Raya Bogor | 10 |
| Tabel 3. | Urutan nukleotida primer <i>rbcL</i> , <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> , dan ITS | 10 |
| Tabel 4. | Komposisi PCR mix 13 µl sebagai konfirmasi DNA | 14 |
| Tabel 5. | Komposisi PCR mix 50 µl | 14 |
| Tabel 6. | Profil PCR region <i>rbcL</i> , <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> , ITS | 14 |
| Tabel 7. | Hasil BLAST sekuen <i>rbcL</i> <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 20 |
| Tabel 8. | Perbedaan ciri morfologi <i>Dipterocarpus littoralis</i> dan <i>Dipterocarpus retusus</i> | 22 |
| Tabel 9. | Hasil BLAST sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 23 |
| Tabel 10. | Hasil BLAST sekuen ITS <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 24 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Judul Gambar | Halaman |
|--------------|---|----------------|
| Gambar 1. | Pohon, daun kering dan daun hijau <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume | 4 |
| Gambar 2. | Distribusi <i>Dipterocarpus littoralis</i> Blume | 5 |
| Gambar 3. | Sumber kandidat DNA barcoding | 7 |
| Gambar 4. | Susunan gen <i>rbcL</i> | 8 |
| Gambar 5. | Susunan gen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> | 8 |
| Gambar 6. | Susunan gen ITS | 9 |
| Gambar 7. | Elektroforegram hasil ekstraksi DNA sampel <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 16 |
| Gambar 8. | Elektroforegram DNA hasil amplifikasi sampel <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 17 |
| Gambar 9. | Herbarium <i>Dipterocarpus</i> | 22 |
| Gambar 10. | Herbarium <i>Dipterocarpus costulatus</i> | 25 |
| Gambar 11. | Rekonstruksi dendrogram famili <i>Dipterocarpaceae</i> berdasarkan <i>rbcL</i> | 26 |
| Gambar 12. | Rekonstruksi dendrogram famili <i>Dipterocarpaceae</i> berdasarkan <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> | 27 |
| Gambar 13. | Herbarium <i>Hopea racophloea</i> dan <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 29 |
| Gambar 14. | Rekonstruksi dendrogram famili <i>Dipterocarpaceae</i> berdasarkan ITS | 29 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | Judul Lampiran | Halaman |
|-------------|--|---------|
| Lampiran 1. | Hasil sekuensing <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 37 |
| Lampiran 2. | Hasil pembuatan contig <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 39 |
| Lampiran 3. | Informasi sekuen nukleotida hasil BLAST <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 40 |
| Lampiran 4. | <i>Graphic summary Dipterocarpus littoralis</i> | 41 |
| Lampiran 5. | Hasil Penjajaran <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 42 |
| Lampiran 6. | Kromatogram <i>Dipterocarpus littoralis</i> | 44 |



ABSTRAK

Karakterisasi Molekuler *Dipterocarpus littoralis* Blume Koleksi Kebun Raya Bogor

Elisabeth Lelu Lagamakin

Dipterocarpus littoralis adalah tumbuhan endemik dari Pulau Nusakambangan, Cilacap, Jawa Tengah, Indonesia. *Dipterocarpus littoralis* tergolong spesies potensial namun dikategorikan sebagai *critically endangered* akibat eksploitasi, alih fungsi lahan, perubahan lingkungan, serta waktu regenerasi tumbuhan lambat. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi *Dipterocarpus littoralis* melalui konstruksi dendrogram, hasil BLAST sekuen *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, dan ITS. Tahap ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan prosedur dari *kit* TianGen. Dilanjutkan dengan sequencing DNA dan analisis data dengan BLAST di situs web NCBI, *multiple sequence alignment* menggunakan metode CLUSTALW dan rekonstruksi dendrogram menggunakan metode *Neighbor Joining* dengan parameter Kimura 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer yang digunakan dalam penelitian mampu mendeterminasi spesies berdasarkan potensi atau karakter yang dimiliki oleh sekuen yang digunakan. Hal tersebut dibuktikan dengan *rbcL* yang mampu memisahkan spesies berdasarkan pada tingkat genus, *psbA-trnH intergenic spacer* mampu memisahkan berdasarkan spesies yang sama, dan ITS mampu memisahkan berdasarkan tingkatan genus maupun spesies yang sama dengan baik.

Kata kunci: *Dipterocarpus littoralis*, DNA barcoding, *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, ITS.

ABSTRACT

Molecular Characterization of *Dipterocarpus littoralis* Blume from Bogor Botanical Gardens

Elisabeth Lelu Lagamakin

Dipterocarpus littoralis is an endemic plant from Nusakambangan Island, Cilacap, Central Java, Indonesia. *Dipterocarpus littoralis* is classified as a potential species but is categorized as critically endangered because of the impact of exploitation, land-use change, environmental changes, and slow plant regeneration time. This study aims to characterize *Dipterocarpus littoralis* through dendrogram construction, BLAST results of *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, and ITS. The DNA extraction step was carried out according to the procedure from the TianGen kit. This was followed by DNA sequencing and data analysis using BLAST on the NCBI website, multiple sequence alignment using the CLUSTALW method, and dendrogram reconstruction using the Neighbor-Joining method with Kimura 2 parameters. The results showed that the primers used in the study were able to determine species based on the potential or character possessed by the sequences used. This is evidenced by *rbcL* which can separate species based on the genus level, the *psbA-trnH intergenic spacer* can separate based on the same species, and ITS can separate based on the same genus and species levels well.

Keywords: *Dipterocarpus littoralis*, DNA barcode, *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, ITS

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Keragaman flora dan fauna yang dimiliki membawa Indonesia menjadi salah satu negara megabiodiversitas. Hal tersebut disebabkan karena Indonesia merupakan negara kepulauan dengan iklim tropis yang terletak diantara benua Asia dan benua Australia, serta samudra Hindia dan samudra Pasifik. Keragaman biodiversitas yang tinggi penting untuk dipertahankan agar keseimbangan alam tetap terjaga (Kusmana & Hikmat, 2015). Salah satu cara untuk mempertahankan keragaman biodiversitas yaitu melalui studi molekuler DNA *barcoding* khususnya pada tumbuhan karena mampu mengidentifikasi dan mengkarakterisasi tumbuhan serta memperoleh data genetik tumbuhan yang dapat disimpan di basis data seperti *National Centre for Biotechnology Information* atau NCBI. Peran tumbuhan sangat vital bagi kelangsungan makhluk hidup di bumi karena tumbuhan memegang peran penting dalam mengatur keseimbangan alam dengan menyerap CO₂ berlebihan di atmosfer, menyimpan cadangan air dan menyediakan tempat hidup bagi fauna serta organisme lainnya (Putri & Wulandari, 2015). Penurunan populasi flora dan fauna terus terjadi akibat perubahan lingkungan, bencana alam, dan tingginya aktivitas manusia. Selain itu, eksploitasi besar-besaran terhadap tumbuhan hutan menjadi bagian penting dalam berkurangnya populasi tumbuhan (Yulita & Partomihardjo, 2011; Kusmana & Hikmat, 2015).

Tumbuhan famili Dipterocarpaceae hidup dengan baik di Indonesia bahkan populasinya mencakup kurang lebih 70% dunia (Kusmana & Hikmat, 2015). Kondisi lingkungan tropis Indonesia optimal bagi pertumbuhan famili Dipterocarpaceae. Hingga saat ini, tumbuhan dari famili tersebut memiliki 16 genus dengan spesies yang teridentifikasi sebanyak kurang lebih 512 spesies dan tersebar di seluruh dunia, sekitar 128 spesies diantaranya adalah spesies endemik Indonesia (Fahmi *et al.*, 2021). Tumbuhan famili Dipterocarpaceae sebagian besar merupakan tumbuhan berkayu keras dan dikenal sebagai penghasil kayu komersial yang memiliki sifat kayu kuat, tahan hama sehingga diminati oleh masyarakat luas dan

dimanfaatkan sebagai bahan baku bangunan maupun aplikasi dekoratif (Yulita & Partomihardjo, 2011). Pemanfaatan tumbuhan harus selaras dengan upaya pelestariannya. Suatu spesies yang terancam punah atau bahkan punah, dapat terjadi akibat adanya fenomena kelangkaan pada spesies tertentu karena spesies tersebut hanya hidup pada lingkungan tertentu dengan kelimpahan yang rendah dan terancam, baik oleh faktor alam maupun faktor demografi (Hiroshi *et al.*, 2015). Hal tersebut semakin diperparah dengan pertumbuhan famili Dipterocarpaceae membentuk suatu komunitas yang homogen sehingga mudah ditemukan dan membutuhkan waktu tumbuh yang relatif lebih lama sehingga proses regenerasi menjadi lambat (Fahmi *et al.*, 2021). Salah satu jenis tumbuhan famili Dipterocarpaceae yang dikategorikan terancam punah (*critically endangered*) oleh IUCN adalah *Dipterocarpus littoralis* Blume yang merupakan tumbuhan berpohon besar endemik Pulau Nusakambangan, Cilacap, Jawa Tengah. Ancaman terhadap *Dipterocarpus littoralis* terjadi akibat eksplorasi, pembukaan lahan pemukiman serta adanya tanaman invasif yang mengganggu perkembangan *Dipterocarpus littoralis* (Yulita & Partomihardjo, 2011; Kusmana & Hikmat, 2015).

Upaya konservasi perlu dilakukan untuk mencegah kepunahan dari tumbuhan famili Dipterocarpaceae khususnya *Dipterocarpus littoralis*, upaya konservasi dapat dilakukan dengan konservasi *in-situ* atau konservasi langsung di habitat asli tumbuhan tersebut maupun dengan upaya konservasi *ex-situ* atau konservasi diluar habitat aslinya. Hingga saat ini, upaya konservasi tumbuhan famili Dipterocarpaceae khususnya *Dipterocarpus littoralis* telah cukup banyak dilakukan. Kebun Raya Bogor sebagai salah satu lembaga konservasi yang juga berfungsi sebagai lembaga penelitian tumbuhan melakukan studi molekuler pada tumbuhan dengan menggunakan penanda molekuler yang dikenal dengan DNA *barcoding*. Pada penelitian ini digunakan sekuen *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan *ITS* yang dapat meng karakterisasi spesies *Dipterocarpus littoralis* sehingga dapat diketahui hasil karakterisasi molekuler dari setiap sekuen yang dapat menjadi rujukan dalam upaya konservasi tumbuhan *Dipterocarpus littoralis*.

1.2. Rumusan Masalah

Dipterocarpus littoralis merupakan tumbuhan endemik Pulau Nusakambangan yang data genetiknya belum tersedia pada basis data NCBI. *Dipterocarpus littoralis* tergolong spesies *critically endangered* sehingga penting untuk melakukan upaya konservasi berbasis molekuler melalui karakterisasi DNA *barcoding* menggunakan primer *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan ITS.

1.3. Tujuan Penelitian

Mengkarakterisasi sekuen *Dipterocarpus littoralis* serta menambah informasi genetik pada basis data NCBI berdasarkan primer *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan ITS.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian pada tumbuhan *Dipterocarpus littoralis* ini diharapkan dapat memberikan informasi genetik dan menambah basis data di NCBI khususnya berbasis primer *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan ITS, serta diharapkan dapat digunakan sebagai acuan bagi penelitian selanjutnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *rbcL* mampu memisahkan spesies berdasarkan pada tingkat genus, *psbA-trnH intergenic spacer* mampu mengelompokkan berdasarkan spesies yang sama, ITS mampu mengelompokkan berdasarkan tingkatan genus maupun spesies yang sama dengan baik. Serta, penelitian ini menambah informasi genetik *Dipterocarpus littoralis* di basis data NCBI yang hingga saat ini belum tersedia.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan sehingga diperoleh sekuen yang informatif terutama pada *psbA-trnH intergenic spacer*. Penting untuk melakukan kombinasi beberapa sekuen atau multilokus dengan sekuen *rbcL+psbA-trnH*, *rbcL+ITS*, dan *rbcL+psbA-trnH+ITS* untuk mengetahui perbandingan antara penggunaan lokus tunggal dan multilokus dalam mendiskriminasi spesies *Dipterocarpus littoralis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Álvarez, I., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS Sequences and Plant Phylogenetic Inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29(3), 417–434. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00208-2](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00208-2)
- Ashton, P. S. 1982. Dipterocarpaceae dalam C.G.G.J van Steenis (Ed). Flora Malesiana I. London: Martinus Nijhoff/Dr.W. Junk. Publishers
- Ariati, S. R., & Widyatmoko, D. (2019). Bogor Botanic Gardens. *Sibbaldia: The International Journal of Botanic Garden Horticulture*, 17, 11–28. <https://doi.org/10.24823/sibbaldia.2019.265>
- Bolson, M., De Camargo Smidt, E., Brotto, M. L., & Silva-Pereira, V. (2015). ITS and *trnH-psbA* as Efficient DNA Barcodes to Identify Threatened Commercial Woody Angiosperms from Southern Brazilian Atlantic Rainforests. *PLoS ONE*, 10(12), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143049>
- CBOL Plant. (2009). A DNA Barcode for Land Plants. *Molecular Ecology Resources*, 106(3), 12794–12797. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12194>
- Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., Van Den Berg, C., Madriñán, S., Petersen, G., Seberg, O., Jørgensen, T., Cameron, K. M., Carine, M., Pedersen, N., Hedderson, T. A. J., Conrad, F., Salazar, G. A., Richardson, J. E., Hollingsworth, M. L., Barraclough, T. G., Kelly, L., & Wilkinson, M. (2007). A Proposal for a standardised Protocol to Barcode all Land Plants. *Taxon*, 56(2), 295–299. <https://doi.org/10.1002/tax.562004>
- 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>
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y., & Zhou, S. (2016). Barcoding the Kingdom Plantae: New PCR Primers for ITS Regions of Plants with Improved Universality and Specificity. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 138–149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>
- de Groot, G. A., During, H. J., Maas, J. W., Schneider, H., Vogel, J. C., & Erkens, R. H. J. (2011). Use of *rbcL* and *trnL*-F as a Two-Locus DNA Barcode for Identification of NW-European Ferns: An Ecological Perspective. *PLoS ONE*, 6(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016371>
- Dwiyanti, F. G., Harada, K., Siregar, I. Z., & Kamiya, K. (2014). Population Genetics of the Critically Endangered Species *Dipterocarpus littoralis* Blume (Dipterocarpaceae) Endemic in Nusakambangan Island, Indonesia. *Biotropia*, 21(1), 1–12. <https://doi.org/10.11598/btb.2014.21.1.1>
- Ellis, R. J. (1979). The Most Abundant Protein in the World. *Trends in Biochemical Sciences*, 4(11), 241–244. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(79\)90212-3](https://doi.org/10.1016/0968-0004(79)90212-3)
- Fahmi, R. U. L., Rasnovi, S., & Harnelly, E. (2021). Diversity and Population Structure of Dipterocarpaceae Species in Weh Island Nature Tourism Park, Indonesia. *Jurnal Natural*, 21(2), 99–104. <https://doi.org/10.24815/jn.v21i1.20300>

- 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>
- Hamidi, A. & Robiansyah, I. 2018. *Dipterocarpus littoralis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T33376A125628315. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T33376A125628315.en>. Accessed on 11 January 2022
- Harnelly, E., Thomy, Z., & Fathiya, N. (2018). Phylogenetic Analysis of Dipterocarpaceae in Ketambe Research Station, Gunung Leuser National Park (Sumatra, Indonesia) Based on *rbcL* and *matK* genes. *Biodiversitas*, 19(3), 1074–1080. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190340>
- Shabrina, H., Siregar, U. J., Matra, D. D., & Siregar, I. Z. (2020). Konfirmasi Jenis Dan Keragaman Genetik Sengon Resisten dan Rentan Infeksi Karat Tumor Menggunakan Penanda DNA Kloroplas. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 17(2), 117–130.
- Hidayat, T., Kusumawaty, D., Yati, D. D., Muchtar, A. A., & Mariana, D. (2008). Analisis Filogenetik Molekuler pada *Phyllanthus niruri* L . (Euphorbiaceae) Menggunakan Urutan Basa DNA Daerah Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Matematika Dan Sains*, 13(1), 16–21.
- Hiroshi, A., Nakai, Y., & Hasegawa, G. P. (2015). Economic Importance of the Endemic Sumatran Lowland Dipterocarp Tree Species (*Shorea javanica*). *African Journal of Tropical Agriculture*, 3(6), 163–172.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE*, 6(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>
- Jobes, D. V., & Thien, L. B. (1997). A Conserved Motif in the 5.8S Ribosomal RNA (rRNA) Gene is a Useful Diagnostic Marker for Plant Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequences. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(4), 326–334. <https://doi.org/10.1023/A:1007462330699>
- Kang, Y., Deng, Z., Zang, R., & Long, W. (2017). DNA Barcoding Analysis and Phylogenetic Relationships of Tree Species in Tropical Cloud Forests. *Scientific Reports*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13057-0>
- Kellogg, E. A., & Juliano, N. D. (1997). The Structure and Function of RuBisCO and their Implications for Systematic Studies. *American Journal of Botany*, 84(3), 413–428. <https://doi.org/10.2307/2446015>
- Kerfeld, C. A., & Scott, K. M. (2011). Using BLAST to teach “E-value-tionary” Concepts. *PLoS Biology*, 9(2), 1–4. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001014>
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcL* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. *PLoS ONE*, 2(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Kress, W. J., Prince, L. M., & Williams, K. J. (2002). The Phylogeny and a new Classification of the Gingers (*Zingiberaceae*): Evidence from Molecular Data. *American Journal of Botany*, 89(10), 1682–1696. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.10.1682>

- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA Barcodes to Identify Flowering Plants. *PNAS*, 102(23), 8369–8374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*, 62, 1–5. <https://doi.org/10.3791/3923>
- Li, H. Q., Chen, J. Y., Wang, S., & Xiong, S. Z. (2012). Evaluation of Six Candidate DNA Barcoding Loci in Ficus (Moraceae) of China. *Molecular Ecology Resources*, 12(5), 783–790. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03147.x>
- Liou, C. Y., Tseng, S. H., Cheng, W. C., & Tsai, H. Y. (2013). Structural Complexity of DNA Sequence. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/628036>
- Liu, J., Möller, M., Gao, L. M., Zhang, D. Q., & Li, D. Z. (2011). DNA Barcoding for the Discrimination of Eurasian yews (*Taxus L.*, Taxaceae) and the Discovery of Cryptic Species. *Molecular Ecology Resources*, 11(1), 89–100. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02907.x>
- Wardani, M., Astuti, I. P., Heriyanto, N. M. (2017). Analisis Vegetasi Jenis-jenis Dipterocarpaceae di Kawasan Hutan Seksi I way Kanan, Taman Nasional Way Kambas, Lampung. *Buletin Kebun Raya*, 20(1), 51–64.
- Martiansyah, I. Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae). In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 7(1), 187–195.
- Masiero, E., Banik, D., Abson, J., Greene, P., Slater, A., & Sgamma, T. (2020). Molecular Verification of the UK National Collection of Cultivated Liriope And Ophiopogon Plants. *Plants*, 9(5), 1–12. <https://doi.org/10.3390/plants9050558>
- Moura, C. C. de M., Brambach, F., Jair, K., Bado, H., Krutovsky, K. V., Kreft, H., Tjitrosoedirdjo, S. S., Siregar, I. Z., & Gailing, O. (2019). Integrating DNA Barcoding and Traditional Taxonomy for the Identification of Dipterocarps in Remnant Lowland Forests of Sumatra. *Plants*, 8(461), 1–14.
- Mulyatni, A. S., Priyatmojo, A., & Purwantara, A. (2011). Sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA ribosomal *Oncobasidium theobromae* dan jamur sekerabat pembanding. *Menara Perkebunan*, 79(1), 1–5.
- Nur'aini, H., Zuhud, E. A. M., & Sunarminto, T. (2020). Conservation of Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*): A Review on the Aspect of Trade System. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*, 26(3), 316–324. <https://doi.org/10.7226/JTFM.26.3.316>
- Nurhasanah., Sundari, & Papuangan, N. (2019). Amplification and Analysis of *rbcL* Gene (*Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase*) of Clove in Ternate Island. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 276(1), 0–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/276/1/012061>

- Olivar, J. E. C., Brillantes, R. Y., Rubite, R. R., & Alejandro, G. J. D. (2014). Evaluation of Three Candidate DNA Barcoding Loci In Selected *Ficus* L. (Moraceae). *International Journal of Scientific & Technology Research*, 3(9), 43–48.
- Phoolcharoen, W., & Sukrong, S. (2013). Molecular Analysis of Vitex Species using Candidate DNA Barcoding and PCR-RFLP of the *matK* Gene for Authentication of *Vitex glabrata*. *Natural Product Communications*, 8(1), 125–128. <https://doi.org/10.1177/1934578x1300800130>
- Purty, R., & Chatterjee, S. (2016). DNA Barcoding: An Effective Technique in Molecular Taxonomy. *Austin J Biotechnol Bioeng*, 3(3), 1059–1.
- Putri, A. H. M., & Wulandari, C. (2015). Potensi Penyerapan Karbon pada Tegakan Damar Mata Kucing (*Shorea Javanica*) di Pekon Gunung Kemala Krui Lampung Barat. *Jurnal Sylva Lestari*, 3(2), 13. <https://doi.org/10.23960/jsl2313-20>
- Rahayu, D. A., & Jannah, M. (2019). *DNA Barcode He.an dan Tumbuhan Indonesia* (ed). Yayasan Inspirasi Ide Berdaya, Jakarta.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Chilling, E. E., & And Small, R. L. (2005). The Tortoise and The Hare II: Relative Utility of 21 Noncoding Chloroplast DNA Sequences For Phylogenetic Analysis. *American Journal of Botany*, 92(1), 142–166. <https://doi.org/10.1111/jpy.12403>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of Whole Chloroplast Genome Sequences to Choose Noncoding Regions for Phylogenetic Studies in Angiosperms: The Tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3), 275–288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Springer, N. M. (2010). Isolation of Plant DNA for PCR and Genotyping using Organic Extraction and CTAB. *Cold Spring Harbor Protocols*, 5(11). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5515>
- Stover, N. A., & Cavalcanti, A. R. O. (2017). Using NCBI BLAST. *Current Protocols in Essential Laboratory Techniques*, 2017(May), 11.1.1-11.1.34. <https://doi.org/10.1002/cpet.8>
- Sudarmonowati, E., Yulita, K. S., Partomihardjo, T., & Wardani, W. (2020). *Daftar Merah Tumbuhan Indonesia 1: 50 Jenis Pohon Kayu Komersial* (ed). LIPI Press. <https://doi.org/10.14203/press.310>
- 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>
- Susilo, A. (2018). Habitat *Dipterocarpus gracilis* di Cagar Alam Leuweung Sancang. *Prosiding Seminar Nasional VI Hayati 2018*.
- Varma, A., Padh, H., & Srivastava, N. (2007). Plant genomic DNA Isolation: An Art or a Science. *Biotechnology Journal*, 2(3), 386–392.

<https://doi.org/10.1002/biot.200600195>

- Vere, N. De, Rich, T. C. G., Trinder, S. A., & Long, C. (2015). DNA Barcoding for Plants. *Methods in Molecular Biology*, 1245(June 2018), 101–118. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_8
- Wu, C. T., Hsieh, C. C., Lin, W. C., Tang, C. Y., Yang, C. H., Huang, Y. C., & Ko, Y. J. (2013). Internal Transcribed Spacer Sequence-Based Identification and Phylogenetic Relationship of I-Tiao-Gung Originating from Flemingia and Glycine (Leguminosae) in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(4), 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.08.002>
- Yu, M., Liu, K., Zhou, L., Zhao, L., & Liu, S. (2016). Testing Three Proposed DNA Barcodes For The Wood Identification of *Dalbergia odorifera* T. Chen and *Dalbergia tonkinensis* Prain. *Holzforschung*, 70(2), 127–136. <https://doi.org/10.1515/hf-2014-0234>
- Yulita, K. S., & Partomihardjo, T. (2011). Keragaman Genetika Populasi Pelahlar (*Dipterocarpus littoralis* (Bl.) Kurz) di Pulau Nusakambangan berdasarkan Profil Enhanced Random Amplified Polymorphic DNA. *Berita Biologi*, 10(4), 541–548.
- Yulizar., Hikmat, A., & Koesmaryadi, N. (2014). Community-Based Conservation Damar (*Shorea javanica*) in Traditional Zone Bukit Barisan National Park. *Media Konservasi*, 19(2), 73–80.