

**DNA *Barcoding Vatica venulosa* Koleksi Kebun Raya
Bogor**

Skripsi



**YOHANA DWI ERICA KAUS PUTRI
31180209**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA
2022**

**DNA *Barcoding Vatica venulosa* 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



**YOHANA DWI ERICA KAUS PUTRI
31180209**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2022**

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Yohana Dwi Erica Kaus Putri
NIM : 31180209
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:

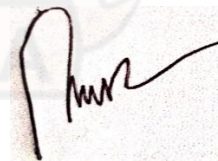
“DNA BARCODING *Vatica venulosa* KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). 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 : 5 Juli 2022

Yang menyatakan



(Yohana Dwi Erica Kaus Putri)
NIM. 31180209

Lembar Pengesahan Tim Penguji

Skripsi dengan judul:

DNA *BARCODING Vatica venulosa* KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

YOHANA DWI ERICA KAUS PUTRI



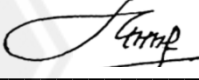
31180209

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	Tanda Tangan
1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. (NIK : 904 E 146)	:  _____
2. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si. (NIP : 199005212018011004)	:  _____
3. Irfan Martiansyah, M.Si (NIP : 198503032019021002)	:  _____

Yogyakarta, 8 Februari 2022

Disahkan oleh:

Dekan,



Drs. Guruh Prihatmo, M.S.

NIK: 874 E 055

Kaprodi,



Dr. Dhira Satwika, M. Sc.

NIK : 904 E 146

**LEMBAR PERSETUJUAN NASKAH
SKRIPSI**

Judul : DNA *Barcoding Vatica venulosa* Koleksi Kebun
Raya Bogor

Nama Mahasiswa : Yohana Dwi Erica Kaus Putri

Nomor Induk Mahasiswa : 31180209

Pembimbing I : Dr. Dhira Satwika, M.Sc.


Pembimbing II : Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.

Hari/ Tanggal Presentasi : Selasa, 8 Februari 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.

NIK : 904 E 146

NIP : 199005212018011004

Ketua Program Studi Biologi,



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

NIK : 904 E 146

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yohana Dwi Erica Kaus Putri

NIM : 31180209

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

"DNA *Barcoding Vatica venulosa* 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, 4 Februari 2022



Yohana Dwi Erica Kaus Putri

31180209

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, Bunda Maria atas berkat dan kasih-Nya yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**DNA *Barcoding Vatica venulosa* Koleksi Kebun Raya Bogor**”. Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang turut memberikan semangat, dukungan dan bantuan sehingga dapat diselesaikannya skripsi ini.

1. Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria atas kasih dan berkatNya yang melimpah kepada penulis, memberikan kekuatan dan kesabaran dalam melalui semua pergumulan yang ada pada saat penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Karolus Kapu, S.PSi. dan Mama Maria Marselina Riem Baben, A.Md., terimakasih untuk segala cinta, kasih, doa, pengorbanan dan nasehat serta serta semangat dan dukungannya kepada penulis selama proses perkuliahan dan proses penulisan skripsi ini terutama mendampingi penulis saat penyelesaian skripsi ini. Terima kasih karena selalu mendukung penulis dalam segala hal apapun bahkan selalu mengajarkan untuk menghadapi setiap masalah dengan nama Tuhan Yesus.
3. Bapak Dr. Dhira Satwika, M.Sc., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, pengajaran dan bersedia memberi ilmunya dalam pengerjaan Skripsi ini, serta dengan sabar memberikan pelajaran dan masukan dalam pembuatan skripsi ini.
4. Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M.Si., selaku pembimbing II yang dengan sabar memberikan bimbingan, pengajaran, pendampingan dan bantuan baik pada penyelesaian penelitian sampai pada penulisan Skripsi ini.
5. Kepala Pusat Riset Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, Badan Riset dan Inovasi Nasional atas izin yang telah diberikan untuk melakukan penelitian skripsi di Laboratorium Treub.
6. Ketua Tim Riset *Global Tree Assessment* atas izin yang telah diberikan untuk menggunakan sampel dan bahan penelitian sebagai material penelitian skripsi.

7. Seluruh dosen dan staff karyawan Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, yang telah memberikan banyak bantuan selama penulis belajar, berupa bekal ilmu, bimbingan serta pengalaman kepada penulis.
8. Kakak Maksimilianus William Kaus Putra, yang telah memberikan semangat, dukungan serta penghiburan kepada penulis.
9. Elisabeth Lelu Lagamakin, Vinny Angelica Bintoro, dan Ester Oktaviana Iswuriani sebagai sahabat yang selalu menemani penulis dalam segala kondisi yang penulis alami, baik susah maupun senang, yang bersedia membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini.
10. Ipong Nabi, Nadia Ganggur, Morselle, Ceik Adu sebagai sahabat penulis, yang selalu memberikan hiburan dan menemani penulis pada saat senang maupun pada saat penulis merasa sedih, terutama pada saat penulis menyusun Skripsi ini.
11. Yoana Eviretviana Ratnasari, adik terbaik yang selalu ada dan menolong penulis dalam keadaan apapun dan menjadi penghibur pada saat penulisan skripsi ini.
12. Simplisiani Kurnia Saputri Nganggu sebagai sahabat penulis yang selalu setia mendampingi penulis selama di Yogyakarta
13. Semua pihak yang telah membantu penulisan dan pembuatan tugas akhir baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan yang perlu diperbaiki. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua orang. Terima Kasih.

Yogyakarta, 4 Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN TIM PENGUJI.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN NASKAH SKRIPSI.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
Abstrak.....	xii
Abstract	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan <i>Vatica venulosa</i>	3
2.1.1 Klasifikasi dan morfologi <i>Vatica venulosa</i>	3
2.1.2 Penyebaran <i>Vatica venulosa</i>	3
2.2 DNA <i>Barcoding</i>	4
2.2.1 Pengertian DNA <i>barcoding</i>	4
2.2.2 Prinsip DNA <i>barcoding</i>	4
2.3 Jenis Penanda DNA <i>barcoding</i>	5
2.3.1 <i>rbcL</i>	5
2.3.2 ITS	6
2.3.3 <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	7
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Desain Penelitian	9
3.4 Pelaksanaan Tahap Penelitian	10
3.4.1 Pengambilan dan sortasi	10
3.4.2 Preparasi sampel	10

3.4.3	Ekstraksi DNA	10
3.4.4	Amplifikasi <i>region DNA barcoding</i>	11
3.4.5	Elektroforesis dan Visualisasi produk isolasi dan PCR	13
3.4.6	Sekuensing	14
3.4.7	Analisis data	14
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Amplifikasi <i>Vatica venulosa</i> dengan gen <i>rbcL</i> , <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> dan ITS	15
4.2	Identifikasi molekuler <i>Vatica venulosa</i>	18
4.2.1	Lokus tunggal <i>rbcL</i>	19
4.2.2	Lokus tunggal <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	22
4.2.3	Lokus tunggal ITS	25
4.2.4	Multilokus <i>rbcL</i> + ITS	28
4.2.5	Multilokus <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	31
4.2.6	Multilokus ITS+ <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	34
BAB V	PENUTUP	
4.1	Kesimpulan	37
4.2	Saran	37
PUSTAKA	39
LAMPIRAN		42

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
Gambar 1	Lokasi penanda <i>rbcL</i>	6
Gambar 2	Lokasi penanda ITS	7
Gambar 3	Lokasi penanda <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	7
Gambar 4	Elektroforesis hasil PCR <i>Vatica venulosa</i> gen <i>rbcL</i>	16
Gambar 5	Elektroforesis hasil PCR <i>Vatica venulosa</i> gen (<i>psbA-trnH intergenic spacer</i>)	17
Gambar 6	Elektroforesis hasil PCR <i>Vatica venulosa</i> gen ITS	18
Gambar 7	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan penanda <i>rbcL</i>	20
Gambar 8	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan penanda <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	23
Gambar 9	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan penanda ITS	26
Gambar 10	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan multilokus <i>rbcL</i> + ITS	30
Gambar 11	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan penanda <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	33
Gambar 12	Pohon filogenetik <i>Vatica venulosa</i> menggunakan penanda ITS+ <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul Lampiran	Hal
I	Hasil sekuensing <i>Vatica venulosa</i> sekuen <i>rbcL</i> , <i>psbA-trnH intergenic spacer</i> dan ITS	42
II	Urutan nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan sekuen <i>rbcL</i>	44
III	Urutan nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	44
IV	Urutan nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan sekuen ITS	44
V	Urutan nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan multilokus <i>rbcL</i> + ITS	45
VI	Urutan Nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan Multilokus <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	45
VII	Urutan Nukleotida <i>Vatica venulosa</i> berdasarkan Multilokus ITS + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	45
VIII	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> sekuen <i>rbcL</i>	46
IX	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	47
X	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> sekuen ITS	48
XI	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> multilokus <i>rbcL</i> + ITS	49
XII	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> Multilokus <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	50
XIII	Hasil BLAST <i>Vatica venulosa</i> Multilokus ITS + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	51
XIV	Graphic Summary sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	53
XV	Graphic Summary sekuen <i>rbcL</i>	53
XVI	Graphic Summary sekuen ITS,	54
XVII	Graphic Summary Multilokus <i>rbcL</i> + ITS	54
XVIII	Graphic Summary Multilokus <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	55
XIX	Graphic Summary Multilokus ITS + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	55
XX	Penyejajaran sekuen <i>rbcL</i>	56
XXI	Penyejajaran sekuen <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	56
XXII	Penyejajaran sekuen ITS,	57
XXIII	Penyejajaran Multilokus <i>rbcL</i> + ITS	57
XXIV	Penyejajaran Multilokus <i>rbcL</i> + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	58
XXV	Penyejajaran Multilokus ITS + <i>psbA-trnH intergenic spacer</i>	58

ABSTRAK

DNA *Barcoding Vatica venulosa* Koleksi Kebun Raya Bogor

Yohana Dwi Erica Kaus Putri

31180209

Vatica venulosa masuk ke dalam spesies *Critically Endangered* yaitu terancam punah pada habitat aslinya, *database* sekuen *V.venulosa* masih sangat terbatas. DNA *barcoding* merupakan metode efisien untuk karakterisasi urutan DNA melalui penanda molekuler *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan ITS. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan *barcoding V.venulosa* sehingga hasil *barcoding* dapat digunakan untuk menambah *database*. Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2021-Januari 2022 di Laboratorium Treub, Pusat Konservasi dan Kebun Raya Bogor dan analisis data dilakukan di Laboratorium Komputer Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta Indonesia. Sampel yang digunakan yaitu DNA dari *V. venulosa* koleksi Kebun Raya Bogor Indonesia. Amplifikasi menggunakan primer *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer* dan ITS, kemudian dilakukan sekuensing. Editing sekuen menggunakan MEGA X kemudian identifikasi BLAST di NCBI, *Multiple Sequence Alignment* dan konstruksi pohon filogeni menggunakan MEGA X dengan metode UPGMA dan parameter Kimura-2. Diperoleh sekuen yang dapat menambah *database Vatica venulosa* berdasarkan sekuen *rbcL*, *psbA-trnH*, dan ITS. Hasil analisis pohon filogenetik, sekuen rekomendasi menjadi *barcode V. venulosa* adalah sekuen ITS, sekuen ini dapat mendeterminasi sampai pada spesies, serta dapat memisahkan antar genus. Hasil berupa sekuen DNA *Vatica venulosa* berdasarkan sekuen *rbcL*, *psbA-trnH*, dan multilokus *rbcL+ITS*, *rbcL+psbA-trnH intergenic spacer* dan *psbA-trnH intergenic spacer +ITS*, hasil konstruksi pohon filogeni menjadi referensi baru dan pengembangan baru dalam identifikasi *Vatica venulosa*, serta dapat digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

Kata kunci: Dipterocarpaceae, DNA *barcoding*, tumbuhan terancam kepunahan,

Vatica venulosa

ABSTRACT

DNA Barcoding *Vatica venulosa* Collection off Bogor Botanical Garden

Yohana Dwi Erica Kaus Putri

31180209

Vatica venulosa is a Critically Endangered species, which is threatened with extinction in its natural habitat, the database of *V. venulosa* sequences is still very limited. DNA barcoding is an efficient method for characterizing DNA sequences through the molecular marker *rbcL*, *psbA-trnH* intergenic spacer and ITS. This study aims to perform barcoding of *V. venulosa* so that the results of the barcoding can be used to add to the database. This research was conducted in October 2021-January 2022 at the Treub Laboratory, Conservation Center and Bogor Botanical Gardens and data analysis was carried out at the Computer Laboratory of Duta Wacana Christian University, Yogyakarta Indonesia. The sample used was DNA from *V. venulosa* collection of the Bogor Botanical Gardens, Indonesia. Amplification using *rbcL* primer, *psbA-trnH* intergenic spacer and ITS, then sequencing was performed. Sequence editing using MEGA X then identification of BLAST in NCBI, Multiple Sequence Alignment and phylogeny tree construction using MEGA X with UPGMA method and Kimura-2 parameters. Obtained sequences that can add to the *Vatica venulosa* database based on *rbcL*, *psbA-trnH*, and ITS sequences. The results of the phylogenetic tree analysis, the recommended sequence to barcode *V. venulosa* is the ITS sequence, this sequence can determine up to species, and can separate between genera. The results are *Vatica venulosa* DNA sequences based on *rbcL*, *psbA-trnH*, and *rbcL*+ITS multilocus sequences, *rbcL*+*psbA-trnH* intergenic spacer and *psbA-trnH* intergenic spacer +ITS, the results of the phylogeny tree construction become a new reference and new development in the identification of *Vatica venulosa*, and can be used for further research development.

Keywords: Dipterocarpaceae, DNA barcode, Endangered Plant, *Vatica venulosa*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara megabiodiversitas memiliki tingkat biodiversitas tumbuhan yang tinggi. Perubahan lingkungan yang signifikan oleh aktivitas manusia, bencana alam dan berbagai faktor lainnya berdampak pada perubahan habitat asli suatu tumbuhan. Perubahan ini selain meningkatkan keragaman genetik tumbuhan, juga menyebabkan tumbuhan terancam punah.

Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-BRIN merupakan salah satu dari 5 Kebun Raya di Indonesia yang menjadi pusat konservasi *ex-situ* tumbuhan, baik tumbuhan endemik Indonesia ataupun koleksi tumbuhan luar. Koleksi tumbuhan hidup Kebun Raya Bogor menjadi sumber yang sangat baik bagi *public display*, juga menjadi pendukung pengembangan penelitian dan pendidikan. Kebun Raya secara khusus memiliki 60 jenis *Vatica*, dan terdapat 17 jenis *Vatica venulosa* koleksi Kebun Raya Bogor (Ariari, 2019).

Vatica venulosa masuk ke dalam spesies *Critically Endangered* menurut *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* atau kelompok tumbuhan dengan tingkat kepunahan yang sangat tinggi oleh hilangnya habitat (Ashthon, 1998). Penelitian secara molekuler *V. venulosa* belum pernah dilakukan sebelumnya, sedangkan tingkat kepunahan tumbuhan ini sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan belum adanya *database V. venulosa* pada *database* NCBI.

Salah satu upaya konservasi secara molekuler yang dapat dilakukan untuk *V. venulosa* adalah penyajian *database* sekuen melalui DNA *barcoding*, sehingga dapat menambah koleksi *database V. venulosa*. DNA *barcoding* merupakan teknik identifikasi secara cepat dengan hasil yang akurat dibandingkan secara morfologi ataupun uji biokimia, karena uji ini menggunakan sekuen DNA pendek sehingga dapat diketahui sekuen *V. venulosa*. DNA *barcoding* digunakan sebagai metode universal dalam

diskriminasi dan identifikasi keragaman filogenetik suatu tumbuhan (Moura, *et al*, 2019).

Susunan materi genetik *V. venulosa* diketahui dengan dilakukannya karakterisasi pada tingkat molekuler menggunakan DNA *barcoding*. Sekuen DNA *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, dan *Internal Transcribed spacer* (ITS) digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi materi genetik secara molekuler berdasarkan sekuens genomnya (Onefeli, 2021).

Penelitian dengan judul “DNA *Barcoding Vatica venulosa* Koleksi Kebun Raya Bogor”, layak untuk dilakukan dan dikembangkan, sehingga diperoleh hasil karakterisasi sekuen *barcoding V. venulosa* menggunakan sekuen *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, dan ITS, serta menjadi data molekuler yang dapat digunakan dalam menentukan strategi konservasi dan referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

Vatica venulosa masuk ke dalam kelompok *Critically Endangered*, saat ini belum ada *database* sekuen *V. venulosa* pada *database online* NCBI.

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menyediakan *database* sekuen *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, dan ITS dari *V. venulosa* yang dapat digunakan untuk referensi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi mengenai *database* DNA *Barcoding V. venulosa* serta menjadi referensi penelitian selanjutnya.

BAB V

PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Barcoding *Vatica venulosa* telah dilakukan, serta telah dideposit ke genebank. Dari studi ini dapat diketahui lokus rekomendasi untuk *Vatica venulosa* yang secara spesifik menunjukkan separasi antar spesies dengan baik dan memisahkan sampai antar spesies adalah lokus tunggal ITS. Penggunaan multilokus dapat dikembangkan untuk menunjukkan pemisahan yang lebih baik serta penambahan *database*

Hasil berupa sekuen DNA *V. venulosa* berdasarkan sekuen *rbcL*, *psbA-trnH intergenic spacer*, dan multilokus *rbcL+ITS*, *rbcL+psbA-trnH intergenic spacer* dan *psbA-trnH intergenic spacer +ITS*, hasil konstruksi pohon filogeni menjadi referensi baru dan pengembangan baru dalam identifikasi *V. venulosa*, serta dapat digunakan sebagai referensi.

4.2 Saran

Dari proses penelitian DNA barcoding dan hasil yang diperoleh, terdapat beberapa saran yang diperhatikan untuk menjadi referensi penelitian selanjutnya:

1. *Vatica venulosa* merupakan tanaman langka yang memiliki karakteristik yang berbeda dengan tanaman lainnya, kit isolasi yang direkomendasikan adalah KIT GeneJet, namun dibutuhkan modifikasi protokol, modifikasi waktu inkubasi sampel pada Buffer RNase A menjadi 20 menit, selain itu modifikasi yang dilakukan pada kecepatan sentrifugasi menjadi 1300 rpm, Modifikasi pada protokol ini memberikan hasil isolasi DNA *V. venulosa* menjadi lebih banyak dan berkualitas.
2. Untuk memperoleh hasil contig yang lebih baik dibutuhkan beberapa pengulangan pada proses sekuensing, setiap sampel dibuat lebih dari satu, sehingga dapat dibandingkan hasil sekuensing yang baik untuk dianalisis lebih lanjut.

3. Penggunaan multi lokus dapat dikembangkan untuk mengetahui sekuen rekomendasi yang dapat mengidentifikasi serta mendeterminasi spesies *V. venulosa*.
4. Pengembangan pembuatan dan modifikasi pada primer yang digunakan dapat memberikan hasil amplifikasi yang lebih spesifik dan memberikan keakuratan hasil sekuensing yang lebih baik karena dapat secara spesifik mengenal daerah target dari diinginkan



DAFTAR PUSTAKA

- Hariati, *et al.* 2019. An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Bogor Botanic Gardens. Center for Plant Conservation Botanical Garden-LIPI.
- Ashton, P. 1998. *Vatica venulosa*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: dalam <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T33458A9785745.en>, diakses 11 Agustus 2021
- Ashton, P.S.1982. Dipterocarpaceae. In: van Steenis, C.G.G.J (ed.) Flora Malesiana (9): 237-552.
- Ardiana D. 2009 Teknik isolasi DNA genom tanaman pepaya dan jeruk dengan menggunakan modifikasi Buffer CTab. Buletin Teknik Pertanian 14 (1):12-16
- Brown, G.G., Gadaleta, G., Pepe, G., Saccone, C. 1986. Structural conservation and variation in the D-Loop containing region of vertebrate mitochondrial DNA. J. Mol. Biol. 192: 503-511
- Basith, A. 2015. Peluang gen *rbcL* sebagai DNA barcode berbasis DNA kloroplas untuk mengungkap keanekaragaman genetik padi beras hitam (*Oryza sativa* L.) lokal Indonesia. In *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS* (pp. 938-941).
- Carneiro de Melo Moura, C., Brambach, F., Jair Hernandez Bado, K., Krutovsky, K. V., Kreft, H., Tjitrosoedirdjo, S. S., Gailing, O. 2019. Integrating DNA barcoding and traditional taxonomy for the identification of dipterocarps in remnant lowland forests of Sumatra. *Plants*, 8(11), 461.
- Chen, S.L., Pang, X.H., Song, J.Y., Shi, L.C., Yao, H., Han, J.P., Leon, C.2014. A renaissance in herbal medicine identification: from morphology to DNA. *Biotechnol. Adv.* 32, 1237–1244.
- Consortium Barcode of Life (CBOL).2009. A DNA Barcode for Land Plants. *PNAS*, 106 (31)
- Edger, P. P., Tang, M., Bird, K. A., Mayfield, D. R., Conant, G., Mummenhoff, K., & Pires, J. C.2014. Secondary structure analyses of the nuclear rRNA internal transcribed spacers and assessment of its phylogenetic utility across the Brassicaceae (Mustards). *PloS one*, 9(7), e101341.
- Hidayat T, Pancoro A.2006. Sistematika dan filogenetika molekuler. Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler. SITH. ITB
- Hidayat T, Kusumawaty D, Kusdianti, Din Y, Agusthina M, Mariana D. 2008. Analisis filogenetik molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (*Euphorbiaceae*) menggunakan urutan basa DNA daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *J Matematika & Sains* 13(1): 16-21

- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PloS One*, 6(5), e19254.
- Julianti, E., Pinaria, A., Lengkong, E. F., & Kolondam, B. J. 2015. DNA Barcoding Tanaman Daluga (*Cyrtosperma* spp) dari Kepulauan Sangihe Berdasarkan Gen *matK* (DNA Barcoding Daluga Plant (*Cyrtosperma* spp) of Sangihe Island Based on *matK* Gene). *Jurnal Bios Logos*, 5(2).
- Jianlin Hu, Zhifang Liu, Xiuqin Ci, & Jie Li. 2019. Aplikasi barcode DNA dalam identifikasi dipterocarpaceae tropis Chin Bull Bot, 54(3), 350.
- 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), e508.
- Kress WJ, Erickson DL, Swenson NG, Thompson J, Uriarte M, Zimmer JK. 2010. Advances in the use of DNA barcodes to build a community phylogeny for tropical trees in a Puerto Rican forest dynamics plot. *Plos One* 5 (11)
- Kusuma, Y. W. C., Dodo, D., & Widyatmoko, D. 2008. Koleksi Tumbuhan Terancam Kepunahan Di Kebun Raya Bogor. *Botanic Gardens Bulletin*, 11(2), 33-45.
- Lahaye R, van der Bank M, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, *et al.* 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 2923–2928
- Onefeli, A. O. 2021. Effectiveness of DNA Barcoding in discriminating *Daniellia ogea* (Harms) Rolfe ex Holland and *Daniellia oliveri* (Rolfe) Hutch. & Dalziel. *Trees, Forests and People*, 4, 100067.
- Panero, J. L., & Crozier, B. S. 2003. Primers for PCR amplification of Asteraceae chloroplast DNA. *Lundellia*, 2003(6), 1-9.
- Parveen, I., Singh, H. K., Malik, S., Raghuvanshi, S., & Babbar, S. B. (2017). Evaluating five different loci (*rbcL*, *rpo B*, *rpo C1*, *matK*, and ITS) for DNA barcoding of Indian orchids. *Genome*, 60(8), 665-671
- Purwaningsih, P. (2004). Ecological distribution of Dipterocarpaceae species in Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 5(2).
- Putra, C. A. S., Manuri, S., & Heriyanto, S. C. 2011. Pohon-Pohon Hutan Alam Rawa Gambut Merang. *MRPP-GIZ, Palembang*.
- Rohimah, S., Ratnasari, T., & Su'udi, M. 2020. Characteristics of DNA Barcodes from Three Thrixspermum Orchids Based on ITS2 Regions. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(3), 446-452.
- Samsuddin, M., Mat, N., Mazlan, N. Z., Omar, S. N. I., Tajuddin, S., Ngah, N., & Ali, A. M. 2012. Internal Transcribed Spacer (ITS) as the Molecular Marker for Identification of *Dioscorea hispida* (Dioscoreaceae). *Journal Of Agrobiotechnology*, 3, 47-55.

- Saw, L. G. 2002. A new species of *Vatica* (Dipterocarpaceae) from Peninsular Malaysia. *Gardens' Bulletin Singapore*, 54, 247-251.
- Shabrina, H., Siregar, U. J., Matra, D. D., & Siregar, I. Z. 2020. Species confirmation and genetic diversity of Gall-rust resistant and susceptible sengon using chloroplast DNA marker. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 17(2), 117-130
- Sulistiani, E. S., Shofi'ah, H. H., & Irawanto, R. 2020. Inventarisasi dan Persebaran Tumbuhan Langka di Kebun Raya Purwodadi. In *Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1).
- Sutrisna. 2020. Kebun Raya Bogor and Its Facilities, History And Functions In The Past And Present. *Jurnal Panalungtik*. E-ISSN: 2621-928x, Vol.3 (2), pp 129-141
- Wang, *et al.* 2018. Complete plastome sequence of *Vatica mangachapoi* (Dipterocarpaceae): a vulnerable (VU) plant species in Southeast Asia.
- Wongsawad, P., & Peerapornpisal, Y. 2014. Molecular identification and phylogenetic relationship of green algae, *Spirogyra ellipospora* (Chlorophyta) using ISSR and *rbcL* markers. *Saudi Journal of Biological sciences*, 21(5), 505-510.
- Zhang, D., Jiang, B., Duan, L., & Zhou, N. 2016. Internal transcribed spacer (ITS), an ideal DNA barcode for species discrimination in *Crawfordia* Wall.(Gentianaceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(6), 101-106.