

**IDENTIFIKASI MOLEKULER *Citrus* sp. (RUTACEAE)
KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR BERDASARKAN SEKUEN
DNA *BARCODE rbcL* dan *psbA-trnH INTERGENIC SPACER***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

**OLEH:
AMELYA GUSTIA SARI
08041281823097**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Proposal Skripsi : Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (Rutaceae) Koleksi
Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA *Barcode*
rbcL dan *psbA-trnH Intergenic Spacer*

Nama Mahasiswa : Amelya Gustia Sari

NIM : 08041281823097

Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 21 Maret 2023

Indralaya, 16 Maret 2023

Pembimbing:

1. Dr. Laila Hanum, S.Si., M.Si.

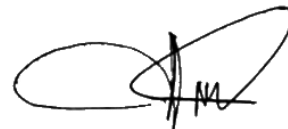
NIP. 197308311998022001



(.....)

2. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.

NIP. 199005212018011004



(.....)

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (Rutaceae) Koleksi
Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA
Barcode rbcL dan *trnH-psbA Intergenic Spacer*

Nama Mahasiswa : Amelya Gustia Sari

NIM : 08041281823097

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Sidang Sarjana di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Maret 2023 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Maret 2023

Pembimbing:

1. Dr. Laila Hanum, S.Si., M.Si.
NIP. 197308311998022001

(.....)

2. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.
NIP. 199005212018011004

(.....)

Pembahas:


1. Dra. Maherni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(.....)

2. Dra. Nita aminasih, M.P.
NIP. 196205171993032001

(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya


Dr. Arum Setiawan, M.Si.
NIP. 197211221998031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Judul Proposal Skripsi : Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (Rutaceae) Koleksi
Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA *Barcode*
rbcL dan *psbA-trnH Intergenic Spacer*

Nama Mahasiswa : Amelya Gustia Sari
NIM : 08041281823097
Fakultas/Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan Strata Satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Maret 2023
Penulis



Amelya Gustia Sari
NIM 08041281823097

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Amelya Gustia Sari
NIM : 08041281823097
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Hak bebas royalti non-eksklusif (non-exclusively royalty-free right)” atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (Rutaceae) Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA Barcode *rbcL* dan *psbA-trnH Intergenic Spacer*”

Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Maret 2023

Penulis



Amelya Gustia Sari

NIM 08041281823097

HALAMAN PERSEMBAHAN

الرحيم الرحمن هالال ب س م

“Jika kalian bersyukur maka akan ku tambahkan nikmatku kepada kalian”

(QS. Ibrahim : 7)

“Bukan tentang cepat atau lambat, tapi tentang bagaimana tetap untuk bertahan.

Setiap orang ada masanya, setiap masa ada orang nya”

Kupersembahkan skripsi ini untuk:

- ❖ *Allah S.W.T. dan Nabi Muhammad S.A.W. beserta Agama Islamku*
- ❖ *Orang tua ku tercinta Bapak Legiono dan Ibu Hoironiza yang selalu mendukung dan medoakan ku disetiap langkah ku*
- ❖ *Pembimbing skripsiku Ibu Dra. Laila Hanum, S.Si., M.Si. dan Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M.Si. yang bersedia membimbing selama perskripsian*
- ❖ *Teman satu angkatanku, Bioers 2018*
- ❖ *Almamaterku, Universitas Sriwijaya*

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (Rutaceae) Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA *Barcode rbcL* dan *psbA-trnH Intergenic Spacer*” sebagai syarat untuk memenuhi gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih saya sampaikan kepada selaku dosen pembimbing Ibu Dr. Laila Hanum, S.Si., M.Si. dan Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M.Si. yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dukungan, dedikasi, nasihat dan ketulusannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada selaku dosen pembahas Dra. Muharni, M.Si. serta Dra. Nita Aminasih, M.P. yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lebih baik.

Penulis menyadari berkat bantuan, bimbingan, dan masukan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si. Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Arum Setiawan, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Dr. Sarno, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan

Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

4. Dr. Laila Hanum, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasihat selama proses perkuliahan.
5. Seluruh Dosen dan staff karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, yang tidak dapat disebutkan satu- persatu.
6. Sahabat Ambyar (Tiara Putri Nabilah, Alifia Anisya, Dinda Sari, Novita Yulinda, Widia Juni Arti) yang selalu menjadi sahabat yang selalu ada di kala senang maupun susah saat perkuliahan berlangsung.
7. Seluruh rekan angkatan Biologi 2018. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Harapan penulis, mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademik dan masyarakat umum atau dapat dijadikan sebagai penelitian lebih lanjut.

Indralaya, Maret 2023

Penulis



Amelya Gustia Sari

NIM 08041281823097

Molecular Identification of *Citrus* sp. (RUTACEAE) Bogor Botanical Garden Collection Based on DNA Barcode Sequence *rbcL* and *psbA-trnH* Intergenic Spacer

**Amelya Gustia Sari
08041281823097**

Resume

Molecular identification is identification with a molecular approach, one of which is with a DNA sequence called a DNA barcode. DNA barcode is short sequence of DNA that have been standardized and can be used for identification. Molecular identification is generally done to confirm the identity and classification of existing species as well as for species that are not yet identified. *Citrus* sp. that Bogor Botanical Garden collected from West Sumatra has not been identified to the level of the species because it has not produced generative organs. Hence, the identification of *Citrus* sp. molecularly is more effective to do. This study aims to compare the primary discrimination ability of *rbcL* and *trnH-psbA* (IGS) against *Citrus* sp. collection of Bogor Botanical Garden from West Sumatra as well as identifying species-level taxons from *Citrus* sp. Bogor Botanical Garden collection from West Sumatra. This research was carried out in July 2022 – Februari 2023, at the Treub Laboratory, Plant Conservation Research Center, Botanical Garden and Forestry – National Research and Innovation Agency, Jl. Ir. H. Juanda No. 13 Bogor, West Java, Indonesia. The research methods are DNA isolation, electrophoresis, DNA amplification, DNA sequencing, data analysis and data presentation. This study used primer *rbcL* and *psbA-trnH* intergenic spacers. The results of the study obtained that *rbcL* primers have not been able to discriminate against *Citrus* sp. at the species level whereas primary *psbA-trnH* primers classifies *Citrus* sp. to *Citrus japonica* based on the phylogeny tree and leaf morphology of *Citrus* sp.

Keywords: *Citrus* sp., Molecular identification, *psbA-trnH* intergenic spacer gene

Identifikasi Molekuler *Citrus* sp. (RUTACEAE) Koleksi Kebun Raya Bogor Berdasarkan Sekuen DNA Barcode *rbcL* dan *psbA-trnH Intergenic Spacer*

**Amelya Gustia Sari
08041281823097**

Ringkasan

Identifikasi molekuler merupakan identifikasi dengan pendekatan molekuler salah satunya dengan sekuen DNA yang disebut DNA *barcode*. DNA *barcode* adalah sekuen pendek DNA yang telah distandarisasi dan dapat digunakan untuk identifikasi. Identifikasi molekuler umumnya dilakukan untuk mengkonfirmasi identitas dan pengklasifikasian spesies yang sudah ada maupun untuk spesies yang belum diketahui identitasnya. *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor yang dikoleksi dari Sumatra Barat belum teridentifikasi sampai tingkat spesies karena belum menghasilkan organ generatif. Oleh karena itu identifikasi *Citrus* sp. secara molekuler lebih efektif untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan diskriminasi primer *rbcL* dan *trnH-psbA* (IGS) terhadap *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat serta mengidentifikasi takson tingkat spesies dari *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Juli 2022 – Februari 2023, bertempat di Laboratorium Treub, Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya dan Kehutanan – Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Ir. H. Juanda No. 13 Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Metode penelitian yang dilaksanakan yaitu isolasi DNA, elektroforesis, amplifikasi DNA, sekuensing DNA, analisis data dan penyajian data. Penelitian ini menggunakan primer *rbcL* dan *psbA-trnH intergenic spacer*. Hasil penelitian yang didapatkan bahwa primer *rbcL* belum mampu mendiskriminasi *Citrus* sp. pada tingkat spesies sedangkan primer *psbA-trnH* mengklasifikasikan *Citrus* sp. adalah spesies *Citrus japonica* berdasarkan pohon filogenetik dan morfologi daun *Citrus* sp.

Kata Kunci: *Citrus* sp., Identifikasi molekuler, Gen *psbA-trnH intergenic spacer*

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN MOTTO	v
KATA PENGANTAR	vi
RESUME	viii
RINGKASAN	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. <i>Citrus</i> sp.	6
2.2. Identifikasi Molekuler	7
2.2.1 DNA Barcode	9
2.2.2 DNA Barcode <i>rbcL</i>	10
2.2.3 DNA Barcode <i>psbA-trnH Intergenic Spacer</i>	11
2.2.4 Kemampuan Diskriminasi (<i>Discrimination Power</i>) DNA Barcode	11
2.2.5 Kelebihan dan Kekurangan Identifikasi Molekuler	12
2.2.6 Teknik Isolasi DNA	12
2.2.7 Elektrofesis	13
2.2.8 Sekuensing DNA	13
BAB III METODE PENELITIAN	15

3.1. Waktu dan Tempat	15
3.2. Alat dan Bahan	15
3.3. Cara Kerja	16
3.3.1. Pengambilan Sampel	16
3.3.2. Preparasi Sampel	16
3.3.3. Ekstraksi Sampel	16
3.3.4. Amplifikasi DNA	17
3.3.5. Elektroforesis DNA	18
3.3.6. Sekuensing DNA	19
3.3.7. Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1. Amplifikasi DNA	21
4.2. Analisis Data Primer <i>rbcL</i>	22
4.3. Analisis Data Primer <i>psbA-trnH Intergenic Spacer</i>	23
4.4. Variasi Basa Nukleotida dan Tipe Mutasi	24
4.5. Analisis Filogenetik	31
4.5.1. Jarak genetik	31
4.5.2. Pohon Filogenetik	34
4.6. Morfologi <i>Citrus hindsii</i> dan <i>Citrus japonica</i>	38
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan	40
5.2. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Pohon <i>Citrus</i> sp.	7
Gambar 4.1. Visualisasi Elektforesis Amplikon <i>Citrus</i> sp.....	21
Gambar 4.2. Pohon filogenetik berdasarkan primer <i>rbcL</i> , menggunakan metode <i>neighbor-joining</i> , model <i>kimura 2-parameter</i> dan <i>boostsrp</i> pengulangan 1000 kali	35
Gambar 4.3. Pohon Filogenetik Berdasarkan Primer <i>psbA-trnH Intergenic Spacer</i> , menggunakan metode <i>neighbor-joining</i> , model <i>kimura 2-parameter</i> dan <i>boostsrp</i> pengulangan 1000 kali	36
Gambar 4.4. Morfologi <i>Citrus</i> sp.	38

DAFTAR TABEL

Table 3.1. Urutan Nukleotida Primer yang Digunakan untuk Amplifikasi DNA <i>Citrus</i> sp.	15
Table 3.2. Suhu dan Waktu Tahapan PCR Masing-Masing Primer.....	18
Tabel 4.1. <i>Homolog Search</i> pada <i>Citrus</i> sp. Menggunakan Primer <i>rbcL</i>	22
Table 4.2. <i>Homolog Search</i> pada <i>Citrus</i> sp Menggunakan Primer <i>psbA-trnH</i> <i>Intergenic Spacer</i>	24
Table 4.3. Variasi Basa Nukleotida dan Tipe Mutasi	25
Table 4.4. Variasi Basa Nukleotida <i>Citrus</i> spp. Berdasarkan Primer <i>psbA-</i> <i>trnH Intergenic Spacer</i>	26
Table 4.5. Variasi Basa Nukleotida <i>Citrus</i> spp. Berdasarkan Primer <i>rbcL</i>	30
Table 4.6. Tabel Jarak Genetik <i>rbcL</i>	32
Table 4.7. Tabel Jarak Genetik <i>psbA-trnH Intergenic Spacer</i>	33
Tabel 4.8. Morfologi <i>Citrus hindsii</i> dan <i>Citrus japonica</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alat dan bahan	47
Lampiran 2 Multiple alignment menggunakan Multalin v5.4.1	48
Lampiran 3 <i>homolog search</i> NCBI	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia adalah negara megabiodiversitas (memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi), dengan luas sekitar 1,3% dari luas bumi dan memiliki kurang lebih 17.500 pulau (Kusmana dan Hikmat, 2015). Keanekaragaman hayati yang tinggi menjadi acuan dasar bagi Indonesia untuk mengkonservasi flora dan fauna yang ada di Indonesia. Konservasi organisme dilakukan sebagai inventarisasi maupun perlindungan terhadap kepunahan, konservasi juga dapat dimanfaatkan sebagai media edukasi maupun penelitian (Handayani, 2020). Konservasi ada dua cara yaitu secara *ex situ* dan *in situ*. Indonesia memiliki Kebun Raya Bogor sebagai salah satu konservasi *ex situ* khusus tumbuhan. Kebun Raya Bogor mengoleksi tumbuhan dari Indonesia maupun tumbuhan dari mancanegara (Lestari, 2021).

Langkah awal dalam konservasi adalah identifikasi yang bertujuan untuk mengetahui, mengenal, dan memahami identitas dari tumbuhan yang dikonservasi. Handayani (2020), mengatakan tujuan identifikasi adalah untuk memberi nama ilmiah yang benar pada tumbuhan. Salah satu koleksi tumbuhan yang dikonservasi di Kebun Raya Bogor yaitu *Citrus* sp. dengan nomor koleksi kebun XXIV.A.224-a-b dikoleksi dari Sumatra Barat dan belum teridentifikasi pada tingkat spesies (Ariati *et al.*, 2019).

Koleksi *Citrus* sp. di Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat baru teridentifikasi pada tingkat genus karena koleksi tersebut belum mampu menghasilkan organ generatif. Menurut (Dewi, 2014), dibutuhkan waktu 2 sampai 4 tahun untuk *Citrus*

sp. yang ditanam dari biji menghasilkan organ generatif. Namun, karakter bunga sangat berguna dalam klasifikasi tumbuhan (Adelina *et al.*, 2017). Astuti dan Ajiningrum (2019), mengatakan bahwa bunga dan buah menjadi karakter penentu dalam membedakan dua jenis *Citrus hystrix*.

Umumnya, identifikasi tumbuhan dilakukan secara morfologi dan anatomi menggunakan daun, batang, bunga, buah, maupun biji (Handayani, 2020). Identifikasi morfologi memiliki kekurangan karena ada faktor yang memengaruhinya yaitu faktor lingkungan dan perbedaan umur tumbuhan (Mantang *et al.*, 2018). Sedangkan identifikasi anatomi tidak terlepas dari identifikasi morfologi karena merupakan data pendukung dari identifikasi morfologi. Adelina *et al.* (2017), mengatakan bahwa identifikasi secara morfologi mudah dilakukan karena karakter morfologi yang mudah dilihat sedangkan identifikasi anatomi dapat menunjukkan korelasi antara karakter anatomi dengan karakter yang lain sehingga memperkuat batasan takson.

Identifikasi molekuler merupakan jenis identifikasi yang banyak digunakan saat ini dengan menggunakan pendekatan molekuler, identifikasi molekuler dapat dilakukan salah satunya dengan cara sekuen DNA dengan menggunakan DNA *barcode*. DNA *barcode* adalah sekuen pendek DNA tertentu yang sudah distandarisasi yang dapat digunakan untuk identifikasi (Annisa dan Hafzari, 2020). Identifikasi molekuler dapat digunakan untuk mengkonfirmasi pengklasifikasian spesies berdasarkan karakter morfologi yang sudah ada maupun untuk identifikasi tumbuhan yang belum diketahui identitasnya (Mantang *et al.*, 2018).

Kriteria umum yang dimiliki DNA *barcode* sebagai penanda genetik yaitu universalitas (mudah untuk diamplifikasi dan disekuensing), kualitas sekuen, dan kekuatan diskriminasi (Hollingsworth *et al.*, 2011). Kekuatan diskriminasi sangat penting dimiliki oleh DNA *barcode*, karena untuk mengidentifikasi suatu spesies artinya membedakan suatu spesies dengan spesies yang lain. Diskriminasi spesies menggunakan DNA *barcode* dapat menggunakan beberapa metode, menurut Sandionigi *et al.* (2012), metode untuk mendiskriminasi atau membedakan hubungan antarspesies yaitu metode similiaritas atau jarak genetik, metode pengelompokan hirarki atau *tree-based*, serta metode diagnostik dan berdasarkan karakter.

DNA *barcode* pada tumbuhan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu *psbA-trnH intergenic spacer* dan *rbcL*. Kedua region tersebut merupakan DNA *barcode* kloroplas yang disebut juga dengan cpDNA (Kress dan Erickson, 2007). Genom plastida lebih tereksploitasi dibandingkan genom nukleus, genom plastida diwariskan dari induk tunggal, tidak rekombinan, dan memiliki struktur genom yang stabil (Kress *et al.*, 2005).

rbcL dianjurkan menjadi DNA *barcode* untuk sekuen DNA tumbuhan oleh Consortium for the Barcode of Life (CBOL) karena struktur ekson yang stabil sehingga universal dapat digunakan pada semua tumbuhan (Alshehri *et al.*, 2019). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.* (2021), DNA *barcode* *rbcL* diindikasikan sebagai DNA *barcode* yang memiliki level tinggi terhadap stabilitas genetik pada *Citrus reticulata*. *rbcL* adalah DNA *barcode* daerah *coding*,

artinya DNA yang dapat mengkode protein dan memiliki tingkat mutasi yang sangat rendah (Rahayu dan Jannah, 2019).

Anakha dan Hari (2021), mengatakan bahwa *psbA-trnH intergenic spacer* mampu mengidentifikasi sampai pada tingkat spesies. Diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Mahadani dan Ghosh (2014), yang mengatakan bahwa teridentifikasi *inverted repeat* sepanjang 54 bp yang unik dalam urutan *psbA-trnH intergenic spacer* hanya di Citrus. *psbA-trnH intergenic spacer* adalah DNA *barcode* daerah *noncoding*, yakni daerah yang tidak mengkode protein sehingga memiliki tingkat mutasi yang tinggi (Taberlet *et al.*, 1991)

1.2. Rumusan Masalah

Citrus sp. salah satu koleksi Kebun Raya Bogor yang di koleksi dari daerah Sumatra Barat baru memiliki organ vegetatif dan belum mampu menghasilkan organ generatif karena pertumbuhan organ generatif *Citrus* sp. yang ditanam dari biji membutuhkan waktu 2 sampai 4 tahun, oleh karena itu identifikasi secara molekuler diperlukan dan lebih efektif untuk digunakan dalam menentukan spesies *Citrus* sp. yang ditanam di Kebun Raya Bogor. Identifikasi molekuler untuk mendapatkan sekuen DNA dari *Citrus* sp. menggunakan DNA *barcode* yaitu *rbcL* dan *psbA-trnH intergenic spacer* dengan membandingkan kemampuan diskriminasi kedua DNA *barcode* ini.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini diantaranya sebagai berikut:

1. Membandingkan kemampuan diskriminasi primer *rbcL* dan *psbA-trnH intergenic spacer* terhadap *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat.
2. Mengidentifikasi takson tingkat spesies dari *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang spesies *Citrus* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dari Sumatra Barat dan juga diharapkan dapat menjadi informasi identifikasi molekuler dengan menggunakan DNA *barcode rbcL* dan *psbA-trnH intergenic spacer*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, S. O., Adelina, E., dan Hasriyanty, H. 2017. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Jeruk Lokal (*Citrus* sp.) Di Desa Doda dan Desa Lempe Kecamatan Lore Tengah Kabupaten Poso. *Agrotekbis: E-Jurnal Ilmu Pertanian*. 5(1): 58-65.
- Akbar, F. 2021. Konservasi genetik hantap (*sterculia oblongata* R. Br.) menggunakan DNA barcoding sekuen psbA-trnH. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- Alshehri, M. A., Aziz, A. T., Alzahrani, O., Alasmari, A., Ibrahim, S., Osman, G., dan Bahattab, O. 2019. DNA Barcoding and Species Identification for some Saudi Arabia Seaweeds Using rbcL Gene. *J. Pure Appl. Microbiol.* 13(4): 2035-2044.
- Alzohairy, A. M. 2008. ClustalW: Widespread Multiple Sequences Alignment Program. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 7 (1): 81-82.
- Anakha, M., dan Hari, N. 2021. Significance of trnH-psbA marker over matK during Barcoding Analysis of Two Jasminum Spesies in Kerala. *Life Sciences International Research Journal*. 8(2): 34-40.
- Anam, K., Cahyadi, W., Azmi, I., Senjarini, K., dan Oktarianti, R. 2021. Analisis Hasil Elektroforesis DNA dengan Image Processing Menggunakan Metode Gaussian Filter. *IJEIS (Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems)*. 11(1): 37-48.
- Andersson, I., dan Backlund, A. 2008. Structure and function of Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry*. 46(3): 275-291.
- Annisa dan Hafzari, R. 2020. *Barcode DNA: Konsep Dasar, Aplikasi, Analisis, dan Filogenetik*. Jakarta: PT. Lontar Digital Asia.
- Aprilyanto, V. dan L. Sembiring. 2016. *Filogenetika Molekuler: Teori dan Aplikasi*. Yogyakarta: Innosain.
- Ardiana, D. W. 2009. Teknik Isolasi DNA Genom Tanaman Pepaya dan Jeruk dengan Menggunakan Modifikasi Bufer CTAB. *Buletin Teknik Pertanian*. 14(1): 12-16.
- Ariati, S. R., Astuti, R. S., Supriyatna, I., Yuswandi, A. Y., Setiawan, A., Saftaningih, D., and Pribadi, D. O. 2019. *An alphabetical list of plant species cultivated in the Bogor Botanic Gardens*. Bogor, Indonesia: Center for Plant Conservation and Botanic Gardens-LIPI.

- Astuti, I. P., dan Ajiningrum, P. S. 2019. *Citrus hystrix* DC dari Jawa Tengah dan Sumba Timur Koleksi Kebun Raya Bogor (*Citrus hystrix* DC Collected from Central Java and East Sumba at the Bogor Botanical Garden). *Jurnal Biologi Indonesia*. 15(2): 199-204.
- Bangol, I., Momuat, L. I., dan Kumaunang, M. 2014. Barcode DNA tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA*. 3(2): 113-119.
- Cabelin, V. L. D., dan Alejandro, G. J. D. 2016. Efficiency of matK, rbcL, trnH-psbA, and trnL-F (cpDNA) to molecularly authenticate Philippine ethnomedicinal Apocynaceae through DNA barcoding. *Pharmacognosy magazine*. 12(Suppl 3): S384.
- Dewi, T. Q. 2014. *20 Tanaman Buah Dalam Pot Rajin Berbuah*. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
- Dharmayanti, N. L. P. I. 2011. Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa*. 21(1): 1-10.
- Du, Z. Y., Qimike, A., Yang, C. F., Chen, J. M., dan Wang, Q. F. 2011. Testing four barcoding markers for species identification of Potamogetonaceae. *Journal of Systematics and Evolution*. 49(3): 246-251.
- Dong, W., Cheng, T., Li, C., Xu, C., Long, P., Chen, C., dan Zhou, S. 2014. Discriminating plants using the DNA barcode rbc L b: an appraisal based on a large data set. *Molecular Ecology Resources*. 14(2): 336-343.
- Hall, B. G., dan Meyer, A. (2001). SCIENCE'S COMPASS-BOOKS ET AL- EVOLUTION: Phylogenetic Trees Made Easy-A How-To Manual for Molecular Biologists. *Science-International Edition-AAAS*. 294(5550): 2297-2297.
- Handayani, T. 2020. Kebun Raya Bogor sebagai Laboratorium Alam Sumber Penelitian dan Pembelajaran Biologi Tumbuhan. In *Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1).
- Hanifa, Y. R., Pujiyanto, S., Ferniah, R. S., dan Kusumaningrum, H. P. 2021. Identifikasi Molekuler Jeruk Nipis Tegal Berdasarkan Fragmen Gen 18S Ribosomal RNA. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*. 8(2): 244-254.
- Hanum, L., Kasiandari, R. S., Santosa, S., dan Rugayah, R. 2020. The Phylogenetic Relationship Among Varieties of *Lansium domesticum* Correa Based on ITS rDNA Sequences. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 18(2): 123-132.

- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. 2(1): 21-26.
- Hariri, M. R., Peniwidiyanti, P., Irsyam, A. S. D., Irwanto, R. R., Martiansyah, I., Kusnadi, K., dan Yuhaeni, E. 2021. Molecular Identification and Morphological Characterization of *Ficus* sp. (Moraceae) in Bogor Botanic Gardens. *Jurnal Biodjati*. 6(1): 36-44.
- Hidayat, T., & Pancoro, A. 2019. Ulasan kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., dan Little, D. P. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS one*, 6(5), e19254.
- Indah, I., dan Jubaidah, J. 2022. Karakterisasi morfologi jenis tanaman buah Jeruk (*Citrus* sp) di perkarangan desa Lae Langge, kecamatan Sultan Daulat, kota Subulussalam, Aceh. In *Seminar Nasional Peningkatan Mutu Pendidikan* (Vol. 3, No. 1, pp. 23-28).
- Isda, N. & M. N. Sofiyanti. 2019. Paku Kawat *Lycopodiella cernua* (L.) Pic. Serm. (Lycopodiaceae-Lycopodiales) dari Provinsi Riau – Kajian Morfologi dan Sekuen DNA berdasarkan Primer RBCL. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 7(1): 43-50.
- Kamiya, K., Harada, K., Nanami, S., Itoh, A., Diway, B. M., dan Chong, L. 2016. < S1-3> Molecular phylogeny and evolution of tropical forest trees. In *Proceedings of the symposium" Frontier in tropical forest research: progress in joint projects between the Forest Department Sarawak and the Japan Research Consortium for Tropical Forests in Sarawak"* (Vol. 2016, pp. 30-37). Forest Department Sarawak (FDS): Japan Research Consortium for Tropical Forests in Sarawak (JRCTS).
- Kimura, M. 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions through Comparative Studies of Nucleotide Sequence. *Journal of Molecular Evolution*. 16(2): 111-120.
- Kolondam, B. J., Lengkong, E., Polii, M. J., Pinaria, A., dan 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*. 2(2).
- Kress, W. J., dan 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): 508.

- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., dan Janzen, D. H. 2005. Use of DNA Barcodes to Identify Flowering Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102(23): 8369-8374.
- Kumar, S., Stetcher, G., Li, M., Knyaz, C. dan Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolutionary*. 35(6): 1547-1549.
- Kusmana, C., dan Hikmat, A. 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*. 5(2): 187-187.
- Lestari, D. A., Azrianingsih, R., dan Hendrian, 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), 1-7.
- Lestari, R. 2021. Identification and assessment of invasive plant species at Bogor Botanic Gardens, Indonesia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 800, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.
- Li, F. W., Kuo, L. Y., Rothfels, C. J., Ebihara, A., Chiou, W. L., Windham, M. D., dan Pryer, K. M. 2011. rbcL and matK earn two thumbs up as the core DNA barcode for ferns. *PLoS One*. 6(10): e26597.
- Li, W., dan Graur, D. 1991. *Fundamental of Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Inc.
- Liu, M., Wang, K., Chen, B., Cai, Y., Li, C., Yang, W., dan Zheng, G. 2021. Intraspecific DNA Barcoding and Variation Analysis for Citri Reticulatae Pericarpium of Citrus reticulata “Chachi”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., dan Reisch, B. I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and Vitis species. *Plant Molecular Biology Reporter*. 12(1): 6-13.
- Mahadani, P., dan Ghosh, S. K. 2014. Utility of indels for species-level identification of a biologically complex plant group: a study with intergenic spacer in Citrus. *Molecular biology reports*, 41(11), 7217-7222.

- Mantang, W., Mantiri, F. R., dan Kolondam, B. J. 2018. Identifikasi Tumbuhan Paku Air (*Azolla* sp.) Secara Morfologi dan Molekuler dengan Menggunakan Gen *rbcL* (Identification of Water Ferns (*Azolla* sp.) Based on Morphological Traits and Molecular Marker Using *rbcL* Gene). *Jurnal Bios Logos*. 8(2): 38-44.
- MEGA Software. Variable site. Diakses pada tanggal 6 November 2022. [Parsimony-informative site \(megasoftware.net\)](http://parsimony-informative.site/megasoftware.net).
- Murtando, H., Sahiri, N., dan Madauna, I. 2016. Identifikasi Karakter Morfologi dan Anatomi Tanaman Jeruk Lokal (*Citrus* sp.) di Desa Karya Agung dan Karya Abadi Kecamatan Taopa Kabupaten Parigi Moutong. *Agrotekbis: E-Jurnal Ilmu Pertanian*. 4(6): 642-649.
- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerbatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (*Random Amplified Polimorfic DNA*). *Agrotrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*. 15(1): 83-93.
- NCBI (*National Center of Biotechnology Information*). *Citrus* sp. Diakses pada tanggal 6 November 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Nei, M., dan Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, USA.
- Penjor, T., Anai, T., Nagano, Y., Matsumoto, R., dan Yamamoto, M. 2010. Phylogenetic relationships of Citrus and its relatives based on *rbcL* gene sequences. *Tree genetics & genomes*. 6(6): 931-939.
- Petit, R. J., dan Excoffier, L. 2009. Gene Flow and Species Delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*. 24(7): 386–393.
- POWO. 2023. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.plantsoftheworldonline.org>. Diakses pada tanggal 17 Maret 2023.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., dan Achaz, G. J. M. E. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular ecology*. 21(8): 1864-1877.
- Rahayu, D. A., dan Jannah, M. 2019. *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia*. Jakarta: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.
- Rahayu, D. A., Nugroho, E. D., dan Listyorini, D. (2019). DNA barcoding ikan introduksi khas Telaga Sari, Kabupaten Pasuruan. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 7(2): 51-62.

- Rinanda, T. 2011. Analisis sekuensing 16S rRNA di bidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 11(3): 172-177.
- Sandionigi, A., Galimberti, A., Labra, M., Ferri, E., Panunzi, E., De Mattia, F., dan Casiraghi, M. 2012. Analytical approaches for DNA barcoding data—how to find a way for plants?. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 146(4): 805-813.
- Setiawan, E. 2018. *Uji Aktivitas Anti Jamur Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Citrus reticulata (Studi Terhadap Jamur Candida albicans dengan Metode Difusi Cakram)* (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- Sevindik, E., Gaye, Z. C., Ilayda, I. M., Monika, S. 2021. Sequence analysis of chloroplast psbA-trnH region in *Citrus* L. (Rutaceae) species from the Aegean region of Turkey. *Nova Biotechnologica et Chimica*. 20(2): 1-8.
- Suparman. 2012. Markah Molekuler dalam Identifikasi dan Analisis Kekerabatan Tumbuhan serta Implikasinya bagi Mata Kuliah Genetika. *Jurnal Bioedukasi*. 1(1): 59-68.
- Swingle, W. T. 1915. A new genus, *Fortunella*, comprising four species of kumquat oranges. *J. Wash. Acad. Sci.* 5:165–176.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., dan Bouvet, J. 1991. Universal Primers for Amplification of Three Non-Coding Regions of Chloroplast DNA. *Plant molecular biology*. 17(5): 1105-1109.
- Wang, T., Chen, L. L., Shu, H. J., You, F., Liang, X. L., Li, J., ... dan Hu, G. W. 2022. *Fortunella venosa* (Champ. ex Benth.) CC Huang and F. hindsii (Champ. ex Benth.) Swingle as Independent Species: Evidence from Morphology and Molecular Systematics and Taxonomic Revision of *Fortunella* (Rutaceae). *Frontiers in plant science*. 13, 867659.
- Yasuda, K., Yahata, M., dan Kunitake, H. 2016. Phylogeny and classification of kumquats (*Fortunella* spp.) inferred from CMA karyotype composition. *The Horticulture Journal*. 85(2): 115-121.
- Zhang, D. X., Hartley, T. G., dan Mabberley, D. J. 2008. “*Rutaceae*” in *Flora of China*. Vol. 11. eds. Z. Y. Wu, P. H. Raven and D. Y. Hong (Beijing: Science Press; Missouri Botanical Garden Press): 92–93.