

SKRIPSI
IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN MOLEKULER PADA
TEGAKAN *Toona* sp. DI HUTAN PENDIDIKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Disusun dan diajukan oleh

MUHAMMAD DAFFA PUTRA

M011191288



PROGRAM STUDI KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2024

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Identifikasi Morfologi dan Molekuler pada Tegakan
Toona sp. di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin
Nama Mahasiswa : Muhammad Daffa Putra
Stambuk : M011 19 1288

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kehutanan

pada
Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin

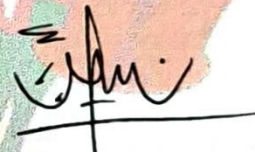
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping



Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP. 19820209201504 2 002



Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M. P.
NIP. 19680410199512 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin


Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M. P.

NIP. 19680410199512 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Daffa Putra
NIM : M011191288
Program Studi : Kehutanan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Identifikasi Morfologi dan Molekuler pada Tegakan *Toona* sp. di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan aliran tulisan orang lain, bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 Januari 2024
Yang menyatakan,

A 10,000 Rupiah Indonesian postage stamp is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem, the text 'REPUBLIK INDONESIA', '10000', and 'METERAI TEMPEL'. The serial number '61E5AALX068384514' is visible at the bottom of the stamp.

Muhammad Daffa Putra

ABSTRAK

MUHAMMAD DAFFA PUTRA (M011191288) Identifikasi Morfologi dan Molekuler pada Tegakan *Toona* sp. di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin

Toona merupakan tanaman hutan yang tumbuh secara alami dan memiliki sebaran yang luas mulai dari Afganistan, India Bagian Selatan, Korea Bagian Timur, Cina, Nepal, Thailand, Indonesia, Papua New Guinea, dan Bagian Timur Australia. *Toona* merupakan jenis tanaman kehutanan yang memiliki spektrum pemanfaatan yang luas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi 2 jenis *Toona* yang berada di hutan pendidikan Universitas Hasanuddin berdasarkan penanda morfologi dan molekuler. Analisis data morfologi menggunakan uji T dan *tonners key*. Analisis data molekuler menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada basis data NCBI (*National Center for Biotechnology*) untuk mencocokkan urutan basa nukleotida hasil sekuensing. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara morfologi, sampel *Toona* memiliki persamaan pada tipe daun majemuk, duduk anak daun, bentuk anak daun, bentuk pola tulang anak daun, dan susunan jumlah anak daun. Perbedaan yang signifikan juga ditemukan pada warna daun, panjang daun majemuk, lebar daun majemuk, jumlah anak daun majemuk, bentuk tepi anak daun majemuk, bentuk ujung anak daun majemuk, dan bentuk pangkal anak daun majemuk. Identifikasi molekuler melalui sekuensing nukleotida memiliki hasil persentase kecocokan sebesar 99,83% untuk identifikasi sampel A sebagai *Toona sinensis* dan 99,49% untuk sampel B sebagai *Toona fargesii*. Hasil tersebut didukung oleh pohon filogenetik yang menunjukkan identitas pohon A memang berkerabat dekat dengan spesies *Toona sinensis* yang berada pada satu sub-kluster dan identitas pohon B berkerabat dekat dengan *Toona fargesii* yang berada pada satu kluster utama.

Kata Kunci: *Toona*, Identifikasi, Morfologi, Molekuler, Sekuensing

ABSTRACT

MUHAMMAD DAFFA PUTRA (M011191288) Morphological and Molecular Identification of *Toona* sp. Stand in the Educational Forest of Hasanuddin University

Toona is a forest plant that grows naturally and has a wide distribution ranging from Afghanistan, Southern India, Eastern Korea, China, Nepal, Thailand, Indonesia, Papua New Guinea, and Eastern Australia. *Toona* is a type of forestry plant that has a broad spectrum of uses. This study aims to identify 2 *Toona* species in the Hasanuddin University education forest based on morphological and molecular markers. Morphological data analysis using T test and tonners key. Molecular data analysis used BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) on the NCBI (National Centre for Biotechnology) database to match the sequence of nucleotide bases from sequencing results. The results of this study show that morphologically, *Toona* samples have similarities in the type of compound leaves, sitting leaflets, leaflet shape, leaflet bone pattern shape, and leaflet arrangement. Significant differences were also found in leaf colour, compound leaf length, compound leaf width, number of compound leaflets, compound leaflet edge shape, compound leaflet tip shape, and compound leaflet base shape. Molecular identification through nucleotide sequencing has a match percentage of 99.83% for the identification of sample A as *Toona sinensis* and 99.49% for sample B as *Toona fargesii*, respectively. These results are supported by a phylogenetic tree that shows the identity of tree A is closely related to the species *Toona sinensis* which is in one sub-cluster and the identity of tree B is closely related to *Toona fargesii* which is in one main cluster.

Keywords: *Toona*, Identification, Morphological, Molecular, Sequencing

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan anugerah, rahmat, Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “ Identifikasi Morfologi dan Molekuler pada Tegakan *Toona* sp. di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tulus kepada semua pihak yang telah membantu selama penelitian juga dalam proses penyusunan skripsi ini, terutama kepada Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng,S.P., MP.** dan Ibu **Dr.Ir. Sitti Nuraeni, M. P.** selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing serta memberi arahan dalam penyusunan skripsi ini.

Terkhusus, skripsi ini tidak luput dari peran orang-orang istimewa bagi penulis, maka penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Abdul Rokhman** dan Ibunda **Cahya Mulyaningsih** serta saudara dan saudari penulis **Alif Farhan Rachman Putra, Firyal Raya Zahira Sofa, Muhammad Dzakki Sayyid Rachman, Adeeva Almaira Raya Afsheen** serta semua keluarga yang selalu memberikan motivasi, dukungan serta doa tulus. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan terima kasih khususnya kepada :

1. Ibu **Gusmiaty, S.P., M.P.,** dan Bapak **Ahmad Rifqi Makkasau,S.Hut.,M.Hut.** selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran, bantuan serta koreksi dalam penyusunan skripsi.
2. Bapak/ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang senantiasa memberikan ilmu dengan penuh rasa tanggung jawab tanpa mengenal lelah serta seluruh **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu melayani pengurusan administrasi selama berada di lingkungan Fakultas Kehutanan.
3. Kepada **Rico Vikraldo, Arie Ridho Pratama, Dilla, Sukriati Andesti Lamanda S.Hut, M.Hut, Daeng Tappa, dan Teman-teman kehutanan UMMA** serta yang telah membantu dalam proses penelitian.

4. **Muhammad Irzhiee Daffa Ghiffary, Rengga Dava Erlansyah, Fernanda Kayisa Putri S.Tr.Par, dan Asfiatul Azqiah S.T.P, Mba Tino** selaku orang-orang yang berkesan dan mendukung Penulis selama ini.
5. **Hafidz Assidiqie, Muhammad Nauval dan keluarga** selaku rekan perjuangan dan keluarga di tanah perantauan terima kasih atas dukungan dan kehadirannya.
6. Keluarga kecil “**SMG**” penulis ucapkan banyak Terima kasih dan hormat untuk segala dukungan dan motivasi.
7. **Warga GBS** penulis ucapkan banyak Terima kasih untuk **Ilham, Gume, Kebba, Refi, Yaomil, Senal, Gayus, Asar, Zatirah, Fauzi** atas dukungan, hiburan, dan pertemanan yang membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman **AIESEC in UNHAS, Abdi Banten, IFSA LC UNHAS** atas perhatian, motivasi, dan semangat yang telah diberikan kepada penulis.
9. Keluarga besar “ **Olympus 2019** ” penulis ucapkan banyak terima kasih untuk segala bantuan, dukungan ataupun motivasinya. Suka duka di masa perkuliahan hingga masa akhir semester bersama yang akan selalu menjadi hal yang menyenangkan.
10. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam semua proses.

Makassar, 22 Januari 2024

Muhammad Daffa Putra

DAFTAR ISI

	Halaman
SKRIPSI	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Kegunaan Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Toona</i> sp.	3
2.2 Morfologi	5
2.2.1 Daun (Folium)	5
2.2.3 Bentuk dan Karakteristik Daun	7
2.3 DNA <i>Barcoding</i>	13
2.3.1 Maturase-K (<i>matK</i>) dan Ribulosa-1,5-bifosfat karboksilase (<i>rbcL</i>)	14
2.3.2 Sekuensing DNA	15
III. METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Morfologi	16
3.2.2 Molekuler	16
3.3 Prosedur Penelitian	16
3.3.1 Pengambilan Sampel	16
3.3.2 Pengamatan Karakteristik Morfologi	17

3.3.3	Pengamatan Molekuler <i>Toona sp.</i>	17
3.4	Analisis Data	18
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1	Gambaran Umum Lokasi Penelitian	20
4.2	Morfologi.....	20
4.2.1	Warna Daun.....	20
4.2.2	Bentuk Daun Majemuk	26
4.2.3	Panjang Daun Majemuk	28
4.2.4	Lebar Daun Majemuk.....	30
4.2.5	Jumlah Anak Daun Majemuk.....	31
4.2.6	Bentuk Anak Daun Majemuk	33
4.2.7	Tepi Anak Daun Majemuk.....	34
4.2.8	Ujung Anak Daun Majemuk	35
4.2.9	Pangkal Anak Daun Majemuk	37
4.2.10	Pola Tulang Anak Daun Majemuk.....	38
4.3	Molekuler	39
4.3.1	Isolasi DNA <i>Toona sp.</i>	39
4.3.2	Amplifikasi PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	41
4.3.3	DNA Sekuensing	43
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1	Kesimpulan	48
5.2	Saran	48
	DAFTAR PUSTAKA	49
	LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 1.	Pengamatan warna permukaan atas daun.....	21
Tabel 2.	Pengamatan warna permukaan bawah daun	23
Tabel 3.	Pengamatan bentuk daun majemuk	27
Tabel 4.	Hasil uji T antara panjang daun majemuk pohon identitas A dan panjang daun majemuk pohon identitas B.....	29
Tabel 5.	Hasil uji T antara lebar daun majemuk pohon identitas A dan lebar daun majemuk pohon identitas B.....	30
Tabel 6.	Hasil uji T antara jumlah anak daun majemuk pohon identitas A dan panjang daun majemuk pohon identitas B	32
Tabel 7.	Pengamatan bentuk anak daun majemuk antara identitas pohon A dan identitas pohon B.....	33
Tabel 8.	Pengamatan tepi anak daun majemuk antara identitas pohon A dan identitas pohon B.....	34
Tabel 9.	Pengamatan ujung anak daun majemuk antara identitas pohon A dan identitas pohon B.....	36
Tabel 10.	Pengamatan pangkal anak daun majemuk antara identitas pohon A dan identitas pohon B	37
Tabel 11.	Pengamatan pola tulang anak daun majemuk antara identitas pohon A dan identitas pohon B	38
Tabel 12.	Hasil pengukuran konsentrasi DNA.....	40
Tabel 13.	Urutan basa nukleotida.....	43
Tabel 14.	Hasil BLAST pada database NCBI	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 1.	Peta Lokasi Penelitian	20
Gambar 2.	Grafik boxplot panjang daun antara identitas pohon A dan identitas pohon B.....	30
Gambar 3.	Grafik boxplot lebar daun antara identitas pohon A dan identitas pohon B...	31
Gambar 4.	Grafik boxplot jumlah anak daun antara identitas pohon A dan identitas pohon B.	33
Gambar 5.	Amplifikasi PCR pada sampel <i>Toona</i> sp. (No template control (NTC), Sampel A (1), Sampel B (2), DNA Ladder (M)).	42
Gambar 6.	Pohon filogenetik sampel A dan B di Hutan Pendidikan, Universitas Hasanuddin.	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1.	Bagian-bagian daun	53
Lampiran 2.	Bentuk daun.....	53
Lampiran 3.	Bentuk ujung daun	54
Lampiran 4.	Bentuk pangkal daun	54
Lampiran 5.	Pertulangan daun.....	55
Lampiran 6.	Tepi daun.....	55
Lampiran 7.	30 Karakter morfologi daun hasil seleksi untuk identifikasi jenis famili dikotiledon	56
Lampiran 8.	Tipe daun majemuk.....	56
Lampiran 9.	Tipe daun majemuk berganda.....	57
Lampiran 10.	Duduk daun.....	57
Lampiran 11.	Data lengkap daun majemuk utuh <i>Toona</i> sp	58
Lampiran 12.	Data lengkap anak daun majemuk utuh <i>Toona</i> sp.....	59
Lampiran 13.	Data lingkungan Sampel <i>Toona</i> sp.....	61
Lampiran 14.	Hasil uji T pada panjang daun majemuk <i>Toona</i> sp. menggunakan software Rstudio	63
Lampiran 15.	Hasil uji T pada panjang daun majemuk <i>Toona</i> sp. menggunakan software Rstudio	63
Lampiran 16.	Hasil uji T pada jumlah anak daun majemuk <i>Toona</i> sp. menggunakan software Rstudio	64
Lampiran 17.	Hasil uji normalitas Shapiro-wilk pada data panjang, lebar, dan jumlah anak daun majemuk sampel A <i>Toona</i> sp.....	64
Lampiran 18.	Hasil uji normalitas Shapiro-wilk pada data panjang, lebar, dan jumlah anak daun majemuk sampel B <i>Toona</i> sp.....	65
Lampiran 19.	Hasil sekuensing pada sampel A dan sampel B <i>Toona</i> sp. di Laboratorium Genetika Science Indonesia	65
Lampiran 20.	Hasil Top 10 hit BLAST terhadap database NCBI pada sampel A <i>Toona</i> sp.	67

Lampiran 21. Hasil Top 10 hit BLAST terhadap database NCBI pada sampel B <i>Toona</i> sp.	67
Lampiran 22. Pengambilan dan Pegukuran Sampel <i>Toona</i> sp. di Hutan Pendidikan, Universitas Hasanuddin.....	68
Lampiran 23. Dokumentasi daun majemuk utuh <i>Toona</i> sp. di Hutan Pendidikan, Universitas Hasanuddin	69

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia dan dikenal sebagai negara *megabiodiversity* (Triyono, 2013). Kondisi geografis kepulauan dan terletak diantara dua Samudra dan dua benua menyebabkan negara Indonesia menjadi suatu negara *megabiodiversity* walaupun luasnya hanya 1,3% dari luas bumi. Meskipun dari jumlah spesies tumbuhan, Indonesia tercatat sebagai negara dengan keanekaragaman tumbuhan yang tinggi, namun potensi sumberdaya genetik yang terkandung di dalamnya belum diketahui semuanya (Kusmana & Hikmat, 2015). Pada beberapa daerah termasuk Sulawesi Selatan, dibutuhkan identifikasi tanaman hutan berdasarkan morfologi dan molekulernya. Tanaman tersebut dapat ditemukan di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin (UNHAS)

Hutan Pendidikan UNHAS merupakan salah satu hutan sekunder yang terdapat di Sulawesi Selatan. Berdasarkan Surat Keputusan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No.SK.619/MenLHK-PKTL/KUH/PLA.2.2.2017 Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin merupakan Kawasan Hutan Lindung dan Kawasan Hutan Produksi Tetap pada Kelompok Hutan Camba Register 4 sebagai Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK), yang secara administrasi termasuk dalam wilayah Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Kawasan Hutan Pendidikan UNHAS memiliki luas 1.453,25 ha yang didominasi oleh hutan alam dengan tipe sekunder yang menempati 68,09% bagian kawasan (Nasri *et al.*, 2022). Terdapat jenis tanaman hutan yang dapat dijumpai di Hutan Pendidikan UNHAS ini. Salah satu tanaman hutan yang tumbuh secara alami maupun ditanam di Hutan Pendidikan UNHAS adalah suren (*Toona* sp).

Suren merupakan tanaman hutan yang digolongkan kedalam marga *Toona*, yaitu salah satu dari jenis marga dari keluarga *meliaceae*. Suren (*Toona* sp.) merupakan jenis tanaman kehutanan yang memiliki spektrum pemanfaatan yang luas melalui eksploitasi produk kayunya dan konstruksi ringan, serat kulit kayunya dapat digunakan untuk bahan pembuatan kertas, sedangkan buah dan ekstrak daun surian dimanfaatkan sebagai bahan obat (Jayusman & Fiani, 2019). Namun begitu, informasi tentang jenis-jenis atau spesies *Toona* di Hutan Pendidikan UNHAS

masih sangat terbatas, dimana masih terdapat 2 jenis tanaman dari genus *Toona* yang belum diketahui nama spesiesnya. Sejauh ini masih terdapat keambiguan dalam penamaan 2 jenis suren yang masih belum diketahui nama latin secara taksonomi. Maka dari itu, perlu dilakukan identifikasi terhadap tanaman suren untuk mengetahui spesies atau jenisnya.

Identifikasi spesies atau jenis dari *Toona* dapat diketahui berdasarkan bentuk morfologi antara satu tanaman dengan tanaman lainnya. Dimulai dari perbedaan bentuk dan ukuran daun antara individu, dapat menghasilkan data berisi informasi tentang sifat-sifat untuk mengidentifikasi keragaman. Identifikasi morfologi dilakukan dengan mengamati karakter yang jelas secara visual, sehingga identifikasi nama spesies dapat dimudahkan dalam pengklasifikasiannya (Restu & Gusmiaty, 2015). Tetapi, identifikasi morfologi pada *Toona* dapat memberikan hasil yang tidak konsisten jika faktor lingkungan lebih banyak mempengaruhi, sehingga perlu dibandingkan dengan identifikasi secara molekuler.

Identifikasi molekuler pada *Toona* dapat menjadi pelengkap yang dibutuhkan untuk memvalidasi hasil dari identifikasi morfologi. Melalui DNA barcoding identifikasi *Toona* dapat menjadi cepat dan akurat karena DNA barcoding memerlukan jumlah sampel yang sedikit dan dapat diambil dari bagian tanaman apa saja, termasuk daun. Oleh karena itu, identifikasi secara molekuler menggunakan DNA barcoding dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies yang secara morfologi sulit untuk dilakukan (Sunaryo, 2015)

Hutan Pendidikan UNHAS memiliki 2 jenis suren (*Toona* sp.) yang belum teridentifikasi spesiesnya. Penelitian berdasarkan penanda morfologi dan molekuler pada *Toona* sp. di Hutan Pendidikan UNHAS sebelumnya belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian untuk mengidentifikasi spesies dari *Toona* sp. menggunakan pengamatan morfologi dan molekuler penting untuk dilakukan.

1.2. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *Toona* sp. secara morfologi dan molekuler di Hutan Pendidikan, Universitas Hasanuddin. Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai sumber informasi tentang spesies-spesies *Toona* yang terdapat di Hutan pendidikan, Universitas Hasanuddin berdasarkan penanda morfologi dan molekuler.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Toona* sp.

Toona sp. merupakan tanaman hutan yang digolongkan kedalam kelompok *Dicotyledone* dan termasuk dalam keluarga meliaceae. Menurut Peng Hua *et al* (1997) keluarga meliaceae memiliki spektrum keluarga yang luas mulai dari pepohonan hingga semak. Keluarga meliaceae memiliki beberapa ciri khusus yang dapat ditemukan pada individunya yaitu, memiliki daun yang menyirip, anak daun yang bersebrangan, memiliki pangkal daun yang asimetris dan pinggirannya yang dapat berbentuk rata maupun bergerigi. Terdapat 50 genus dan 650 spesies dalam keluarga meliaceae yang dapat hidup pada iklim tropis dan subtropis. Menurut Edmond & Staniforth (1998) persebaran keluarga meliaceae umumnya ada pada daerah hutan pegunungan dengan cangkupan cahaya yang cukup. Keluarga meliaceae biasa ditemukan tumbuh pada lingkungan kelerengan dan dekat dengan sumber air yang ada pada hutan sekunder. Tumbuh secara alami pada ketinggian 350-2000 mdpl dengan persebaran pada berbagai negara di Eropa, India, Nepal, China, Burma, Thailand, dan Malaysia yang selanjutnya di datangkan ke pulau Jawa sebagai tanaman penanang seperti yang ditanam di India dan Sri Lanka. Salah satu keluarga meliaceae yang memiliki ciri dan persebaran yang serupa adalah genus *Toona*.

Toona merupakan jenis tanaman kehutanan yang memiliki spektrum pemanfaatan yang luas (Jayusman & Fiani, 2019). *Toona* merupakan tanaman hutan yang tumbuh secara alami dan memiliki sebarans yang luas mulai dari Afganistan, India Bagian Selatan, Korea Bagian Timur, Cina, Nepal, Thailand, Indonesia Papua New Guinea, dan Bagian Timur Australia (Martawijaya, 2005 ; Rakhman, 2012). Klasifikasi tumbuhan ini berdasarkan *The Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Meliaceae

Genus : Toona

Tanaman hutan yang digolongkan kedalam genus Toona diketahui saat ini memiliki lima spesies pohon yaitu yaitu *T. calantas* atau *Philippine mahogany*, *T. ciliata* yang disebut juga sebagai *Australian red cedar*, *T. sureni* atau *Indian mahogany*, *T. febrifuga* atau *Vietnam mahogany*, *T. sinensis* atau *Chinese mahogany*, dan *T. sureni* atau suren atau *Indonesian mahogany*. (Martawijaya, 2005 ; Rakhman, 2012). Persebaran Toona berdasarkan tempat tumbuhnya berada pada dataran tinggi dengan ketinggian 1.200–2.100 mdpl (Dharmawati, 2002). Umumnya genus ini ditemukan di hutan-hutan primer dan sekunder yang terkena cahaya matahari secara langsung, di lereng bukit yang curam, dan di dekat sungai (Edmond & Staniforth, 1998 ; Rahmawan *et al.*, 2011). Di Indonesia terdapat 2 jenis Toona yang dikenal dan marak dibudidayakan di Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) yaitu, *Toona sinensis* dan *Toona sureni*. *T. sinensis* memiliki karakter morfologi secara umum berbulu halus pada tulang daun, ujung daun muda berwarna merah, dan buahnya tumbuh pada ujung ranting, sedangkan, *T. sureni* tidak memiliki bulu-bulu halus, ujung daun muda berwarna hijau, dan buahnya tumbuh pada batangnya (Dharmawati, 2002 ; Cahayani, 2019).

Toona memiliki karakter pohon yang berukuran sedang hingga besar dengan tinggi total 40-60 m dengan tinggi bebas cabang hingga 25 m dan diameter batang mencapai 100-300 cm (Jayusman *et al.*, 2007 ; Rahmawan *et al.*, 2011). Kulit batangnya berwarna coklat keputihan hingga pucat keabu-abuan dan terlihat pecah-pecah seperti tumpang tindih, dan apabila dipotong pohon ini akan mengeluarkan aroma khas yang sangat tajam. Memiliki daun majemuk dengan 8-20 pasang anak daun dengan panjang daun antara 50-70 cm. Buahnya berbentuk kapsul dengan panjang antara lain 2-3,5 cm dan terdiri dari ruang-ruang yang didalamnya terdapat benih. Pohon Toona berbunga di ujung cabangnya dengan diameter bunga berkisar 4-5 mm, berukuran kecil, berwarna putih atau pink pucat (Dharmawati, 2002 ; Cahayani, 2019).

Kayu pohon bergenus Toona bernilai tinggi karena sifat kayunya yang baik sehingga mudah diolah di dalam industri penggergajian. Bau khas yang berasal dari kayunya menjadi penangkal terhadap serangan rayap. Pemanfaatan pengolahan

hasil hutan pohon bergenus *Toona* ini sangat bervariasi mulai dari lemari, mebel, panel dekoratif, design interior ruangan, kerajinan, alat musik, finis, peti kemas, papan, konstruksi, kayu perkakas, rangka pintu dan jendela, kayu perkapalan, serta seni ukir dan pahat (Rakhman, 2012).

Penelitian sebelumnya terhadap genus *Toona* berjenis *Toona sureni*, menunjukkan bahwa pengolahan pada beberapa bagian pohonnya seperti kulit dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat diare dan ekstrak daunnya dipakai sebagai antibiotik dan bioinsektisida. Sedangkan kulit, batang dan buahnya dapat diolah menjadi minyak atsiri (Harneti & Nurlelarsi, 2018). Daun *suren* memiliki zat aktif berupa anti feedant yaitu terpenoid, alkaloid, dan limonoid yang digunakan sebagai insektisida untuk membunuh, menghambat pertumbuhan dan penolak makan yang diujikan terhadap serangga *Bombyx mori* (Aldywaridha, 2010 ; Cahayani, 2019).

2.2 Morfologi

Morfologi tumbuhan merupakan suatu ilmu yang mempelajari mengenai bentuk dan perkembangan penampilan eksternal tubuh dan organ tumbuhan beserta fungsi dalam kehidupannya. Karakter morfologi merupakan ciri fisik yang dapat dilihat dengan mata telanjang pada suatu bagian tumbuhan. Karakter morfologi umum digunakan untuk mengklasifikasikan tumbuhan tersebut hingga dapat dikelompokkan dalam kelompok taksa tertentu (Sa'adah, 2015). Karakter morfologi pada *Toona* yang dapat diamati adalah semua organ tumbuhan, yaitu akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji beserta bagian-bagian dan bentuk-bentuknya, sedangkan dalam penelitian ini yang akan diidentifikasi hanya organ daunnya saja.

2.2.1 Daun (Folium)

Daun adalah bagian dari tumbuhan yang memiliki nama ilmiah *folium*. Daun umumnya memiliki bentuk helaian dan berwarna hijau sebagai tempat terjadinya fotosintesis dan pertukaran gas. Bentuk daun pada umumnya memiliki karakteristik yang tetap dan tidak berubah-ubah, perubahan yang terjadi pada daun biasanya terjadi karena faktor umur dan tempat tumbuh. Oleh karena itu, dengan mengamati

ciri dari bentuk dan karakteristik sebuah daun, maka identifikasi tumbuhan hingga ke tingkat spesies dapat dilakukan dengan mudah (Oka *et al*, 2022).

Daun dibedakan menjadi daun tunggal dan daun majemuk, jika ditinjau dari jumlah helaian daunnya. Daun tunggal yaitu apabila setiap satu tangkai daun didukung oleh satu helaian daun, maka daun tersebut dinamakan daun tunggal. Daun majemuk yaitu apabila dalam satu tangkai daun didukung oleh lebih dari satu helaian daun, maka daun tersebut dinamakan sebagai daun majemuk (Rosanti, 2013). Berdasarkan bentuk lamina (helaian daun) yang ada pada satu *petiole* daun majemuk dibedakan menjadi bagian-bagian berikut (Oka *et al*, 2022) (**Lampiran 8**):

1. *Pinnately compound* (majemuk menyirip). Daun *pinnately compound* memiliki anak daun atau *leaflet* lebih dari satu dan tersusun berjejer pada satu bidang datar secara berhadapan maupun berseling.
2. *Palmately compound* (majemuk menjari). Daun *palmately compound* memiliki anak daun atau *leaflet* lebih dari satu dan tersusun secara bersamaan pada suatu titik di ujung *petiole*.
3. *Ternate*. Daun *ternate* adalah daun majemuk menjari dengan tiga helai anak daun.
4. *Trifoliolate*. Daun *trifoliolate* adalah daun majemuk menjari maupun menyirip dengan tiga helai anak daun. Daun tipe ini biasa juga disebut *pinnately trifoliolate* atau *palmately trifoliolate*.

Daun majemuk juga memiliki bentuk berganda yang cara penamaannya diberikan kata *bi* jika daun majemuk tersebut berganda dua. Daun majemuk yang berganda tiga cara penamaannya adalah dengan memberikan kata *tri*. Jadi daun *pinnately compound* yang berganda dua diberikan nama *bipinnately compound* dan jika berganda tiga diberi nama *tripinnately compound* (**Lampiran 9**).

2.2.2 Duduk Daun

Duduk daun adalah susunan anak daun yang melekat pada batang atau ranting dari tanaman. Susunan anak daun ini dapat menjadi penciri dari spesies yang ada dalam famili karena beberapa famili memiliki ciri tersendiri pada susunan anak

daun. Maka dari itu, duduk daun dapat menjadi penciri dari dalam melakukan identifikasi terhadap spesies tumbuhan (Oka *et al*, 2022). Beberapa pola duduk daun pada batang atau ranting sebagai berikut (**Lampiran 9**)

1. *Alternate* (berseling). Daun *alternate* memiliki pola tumbuh daun yang tersebar di sepanjang ranting dengan jarak mendatar antar daun hampir sama. Dudun daun *alternate* dapat juga memiliki pola tumbuh yang tidak sejajar tetapi berseling berputar yang biasa disebut *alternate spiral*.
2. *Opposite* (berhadapan). Daun *opposite* memiliki pola tumbuh daun yang tersebar secara berhadapan dengan arah berhadapan yang tegak lurus (*opposite decussate*) atau berhadapan yang sedikit serong atau tidak tegak lurus (*subopposite*).
3. *Whorled* (melingkar). Daun *whorled* memiliki pola tumbuh daun yang berputar pada batang secara bersama-sama dalam satu garis keliling lingkaran.

2.2.3 Bentuk dan Karakteristik Daun

Daun pada suatu spesies memiliki bentuk yang beragam walaupun umumnya memiliki bentuk yang serupa walaupun berasal dari individu yang berbeda. Bentuk daun merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting dalam melakukan identifikasi spesies tumbuhan (Oka, 2022). Beberapa bentuk daun atau lamina (helaian daun) dan karakteristiknya dapat dibedakan sebagai berikut (**Lampiran 1-10**):

1. Bangun daun (**Lampiran 2**)
 - a. *Filiform*. Bentuk bangun daun yang menyerupai benang yang panjang dan halus, seperti lembut menjulai.
 - b. *Needleshaped (acicular)*. Bentuk bangun daun yang tipis dan panjang menyerupai jarum yang tajam.
 - c. *Linear*. Bentuk bangun daun yang sejajar namun tipis dan sempit pada permukaannya, namun panjang dan memiliki ujung yang melancip.
 - d. *Oblong*. Bentuk bangun daun yang paralel pada kedua sisinya dengan panjang dua sampai tiga kali lebarnya.

- e. *Lanceolate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai mata tombak dengan pangkal daunnya sebagai permukaan daun yang terlebar dan ujung daunnya menyempit hingga ke ujung. Panjang daun ini memiliki ukuran dua sampai tiga kali lebar pangkal daunnya.
- f. *Oblanceolate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai mata tombak (*lanceolate*) yang terbalik dengan ujung daunnya sebagai permukaan daun yang terlebar dan pangkal daunnya menyempit hingga ke *petiole*.
- g. *Ovate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai bulat telur (oval) dengan bagian terlebar ada pada 1/3 dari pangkal dan mengecil ke ujung dengan ukuran panjang yang kurang dari dua kali lebarnya.
- h. *Obovate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai telur terbalik dengan bagian terlebar ada pada 1/3 dari ujung daun dan mengecil hingga ke pangkal daun.
- i. *Deltoid*. Bentuk bangun daun yang menyerupai huruf latin delta atau bangun datar segitiga.
- j. *Cordate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai bentuk lambang hati terbalik dengan bagian runcing ada pada ujung daun.
- k. *Spatulate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai sendok nasi dengan bagian ujung yang lebar dan membulat dan mengecil atau langsing pada bagian pangkal daun.
- l. *Reniform*. Bentuk bangun daun yang menyerupai ginjal dengan pangkal daun yang tampak seperti menyatu atau memiliki batas yang samar dengan *petiolenya* yang memanjang hingga membuat cekungan pada bagian tengah permukaan daun.
- m. *Elliptic*. Bentuk bangun daun jorong dengan bagian terlebar ada pada bagian tengah permukaan daun yang sama-sama mengecil baik ke ujung daun maupun ke pangkal daun. Panjang daun ini dua sampai tiga kali lebar dari bagian tengah permukaan daun.
- n. *Rhombate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai lambang berlian atau bangun datar belah ketupat dengan bagian tengah permukaan daun yang membentuk sudut yang berhadapan dan meruncing ke ujung daun dan pangkal daun.

- o. *Orbicular*. Bentuk bangun daun yang menyerupai lingkaran atau melingkar (orbit) dengan panjang dan lebar yang relatif sama.
- p. *Pandurate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai biola terbalik dengan bagian terlebar ada pada ujung daun hingga mengecil dan membuat lengkungan pada bagian tengah permukaan daun.
- q. *Sagittate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai mata anak panah atau busur dengan bagian pangkal yang membuat dua sudut lancip yang mengarah ke dalam hingga menyatu ke *petiole*.
- r. *Hastate*. Bentuk bangun daun yang menyerupai kepala anak panah tetapi memiliki bentuk pangkal yang memiliki dua sudut lancip yang mengarah keluar sehingga seperti menjari (*palmate*).

2. Ujung daun (*apex folii*) (**Lampiran 3**)

- a. *Cirrhous*. Bentuk ujung daun yang menyerupai sulur yang memungkinkannya berfungsi sebagai alat pembelit untuk memanjat.
- b. *Aristate*. Bentuk ujung daun yang menyerupai tajir dengan bulu yang kaku dan tajam.
- c. *Caudate*. Bentuk ujung daun yang menyerupai ekor dengan tingkat kekakuan yang cukup fleksibel sehingga tidak kokoh dan tidak tajam.
- d. *Acute*. Bentuk ujung daun yang dengan kedua sisi permukaan daunnya lurus hingga membentuk ujung yang runcing saat bertemu.
- e. *Acuminate*. Bentuk ujung daun yang meruncing dengan sisi tepi daun yang membentuk cekungan sebelum akhirnya melancip pada ujung daun.
- f. *Cuspidate*. Bentuk ujung daun yang menyerupai *acuminate* tetapi agak berekor, tajam, dan runcing. Tetapi lebih pendek jika dibandingkan dengan *caudate* yang berekor panjang.
- g. *Mucronate*. Bentuk ujung daun yang memiliki sisi tepi daun seperti membulat sebelum akhirnya membentuk duri yang runcing dan tajam pada ujungnya.
- h. *Mucronulate*. Bentuk ujung daun yang serupa dengan *mucronate* tetapi membentuk duri yang tidak tajam atau tumpul.

- i. *Apiculate*. Bentuk ujung daun yang menyerupai tonjolan pendek (*apicula*) yang tajam tetapi cukup lentuk dan tidak kaku untuk ditekuk.
 - j. *Rounded*. Bentuk ujung daun yang membulat atau melingkar sehingga tidak membuat sebuah sudut yang berarti.
 - k. *Obtuse*. Bentuk ujung daun yang memiliki sisi tepi daun yang bertemu pada satu titik di ujung hingga menimbulkan sudut yang tumpul.
 - l. *Retuse*. Bentuk ujung daun yang menyerupai mulut ikan karena terdapat cekungan kecil pada ujung daunnya yang tumpul.
 - m. *Truncate*. Bentuk ujung daun yang rata seperti garis lurus.
 - n. *Emarginate*. Bentuk ujung daun yang memiliki lekukan dangkal dan lebar.
 - o. *Obcordate*. Bentuk ujung daun yang serupa seperti *emarginate* tetapi memiliki lekukan yang lebih dalam dan lebar.
3. Pangkal daun (*basis folii*) (**Lampiran 4**)
- a. *Attenuate*. Bentuk pangkal daun yang memiliki permukaan yang lebar pada tengah daun tetapi menjadi langsing atau tirus mengecil ke bagian pangkal.
 - b. *Cuneate*. Bentuk pangkal daun yang meruncing ke bagian *petiole* seperti mata baji yang umumnya ditemukan pada bangun daun berbentuk *elliptic*.
 - c. *Obtuse*. Bentuk pangkal daun yang membulat simetris pada tiap sisi *petiolenya* yang umumnya ditemukan pada bangun daun berbentuk *lanceolate* (mata tombak).
 - d. *Oblique*. Bentuk pangkal daun yang membulat tapi tidak simetris antara sisi kanan dan sisi kiri dari *petiolenya*.
 - e. *Truncate*. Bentuk pangkal daun yang rata seperti garis lurus.
 - f. *Rounded*. Bentuk pangkal daun yang bundar sehingga tidak membentuk sudut yang umumnya ditemukan pada bangun daun berbentuk *ovate*.
 - g. *Cordate*. Bentuk pangkal daun yang membentuk seperti lambang hati terbalik atau angka tiga yang menghadap ke atas.

- h. *Auriculate*. Bentuk pangkal daun yang menyerupai bagian bawah cuping telinga manusia yang membentuk cekungan pada pertemuan pangkal dengan *petiole*.
 - i. *Hastate*. Bentuk pangkal daun yang menyerupai bagian bawah dari anak tombak.
 - j. *Sagittate*. Bentuk pangkal daun yang menyerupai bagian bawah dari anak panah atau busur.
 - k. *Perfoliate*. Bentuk pangkal daun yang secara keseluruhan mengelilingi batang atau *petiole* sehingga nampak seperti tertembus.
 - l. *Peltate*. Bentuk pangkal daun yang *petiolenya* tidak melekat pada bagian pangkal daun, melainkan dari bawah daun pada permukaan daun bagian tengah.
 - m. *Connate-perfoliate*. Bentuk pangkal daun yang serupa dengan *perfoliate* yang tegak lurus berhadapan sehingga menimbulkan pangkal daun yang bersambungan antara satu dengan yang lainnya.
4. Susunan tulang-tulang daun (*nervatio* atau *venation*) (**Lampiran 5**):
- a. Ibu tulang (*costa*), yaitu tulang yang biasanya terbesar, merupakan terusan tangkai daun, dan terdapat ditengah-tengah membujur dan membelah daun
 - b. Tulang-tulang cabang (*nervus lateralis*), yaitu tulang-tulang yang lebih kecil dari pada ibu tulang dan berpangkal pada ibu tulang
 - c. Urat-urat daun (*vena*), yaitu tulang-tulang cabang yang kecil atau lembut membentuk susunan seperti jala.
5. Tepi daun (*Margo folii*) (**Lampiran 6**):
- a. *Entire*. Bentuk tepi daun yang rata tanpa lekukan atau gelombang.
 - b. *Undulate*. Bentuk tepi daun yang bergelombang ke arah atas-bawah atau kanan-kiri, bukan dari arah dalam maupun luar *midrib* (tulang daun utama).
 - c. *Crenate*. Bentuk tepi daun yang tampak seperti bergerigi dengan toreh gerigi yang tumpul hingga mengarah ke ujung daun.

- d. *Serrate*. Bentuk tepi daun yang tampak seperti bergerigi dengan toreh gerigi yang berujung runcing hingga mengarah ke ujung daun.
- e. *Serrulate*. Bentuk tepi daun yang tampak seperti bergerigi dengan toreh yang halus dan berukuran kecil-kecil hingga mengarah ke ujung daun.
- f. *Double serrate*. Bentuk tepi daun yang tampak seperti bergerigi serupa dengan *serrulate* yang memiliki toreh halus dan kecil tetapi pada toreh daun ini memiliki toreh halus lagi sehingga menyebabkan torehnya berganda.
- g. *Dentate*. Bentuk tepi daun yang tampak seperti bergerigi dengan toreh yang kasar dan kurang lebih tegak lurus dengan *midrib* (tulang daun utama).
- h. *Denticulate*. Bentuk tepi daun yang serupa dengan *dentate* tetapi memiliki ukuran toreh yang lebih kecil dan halus.
- i. *Incised*. Bentuk tepi daun yang bertoreh runcing dan dalam dengan tingkat kedalaman toreh separuh dari jarak antara tepi daun dengan *midrib* (tulang daun utama).
- j. *Lacerate*. Bentuk tepi daun yang tidak beraturan dan seperti tercabik-cabik dengan tingkat kedalaman toreh lebih dari separuh jarak antara tepi dengan *midrib* (tulang daun utama).
- k. *Ciliate*. Bentuk tepi daun yang rata dan halus tetapi memiliki bulu-bulu halus disepanjang tepiannya.
- l. *Lobed*. Bentuk tepi daun yang bertoreh tumpul dan jarang-jarang dengan tingkat kedalaman torehannya sedalam separuh jarak antara tepi dengan *midrib* (tulang daun utama).
- m. *Sinuate*. Bentuk tepi daun yang serupa dengan tepi daun *undulate* tetapi memiliki pola gelombang yang lebih besar.
- n. *Parted*. Bentuk tepi daun yang bertoreh tumpul dan jarang dengan tingkat kedalaman torehan lebih dari separuh jarak antara tepi dengan *midrib* (tulang daun utama).
- o. *Cleft*. Bentuk tepi daun yang bertoreh kasar dengan tiap torehan pada tepi daun bertoreh kembali sehingga membuat torehan yang runcing

dengan tingkat kedalaman sekitar separuh jarak antara tepi dengan *midrib* (tulang daun utama).

- p. *Pinnatifid*. Bentuk tepi daun yang memiliki torehan sangat dalam hingga hampir atau menyentuh *midrib* (tulang daun utama).
- q. *Involute*. Bentuk tepi daun yang memiliki tepi seperti tergulung ke arah permukaan atas daun.
- r. *Revolute*. Bentuk tepi daun yang memiliki tepi seperti tergulung ke arah permukaan bawah daun.

2.3 DNA Barcoding

DNA *barcoding* merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi organisme dengan menggunakan potongan gen tertentu. DNA *barcoding* dapat digunakan oleh ahli taksonomi dengan cepat dan relatif murah untuk mengidentifikasi spesies yang sulit dilakukan secara morfologi. Identifikasi dan mempertahankan keanekaragaman genetik suatu populasi sangat penting dalam suatu konservasi (Rimbawanto *et al*,2012).

DNA *barcoding* dapat digunakan untuk dua tujuan, yaitu sebagai perangkat baru untuk membantu para ahli taksonomi yang biasa bekerja keras pada spesimen-spesimen yang sulit diidentifikasi dan merupakan perangkat inovatif bagi yang bukan ahli taksonomi dan untuk mengidentifikasi tanaman secara cepat. Sehingga identifikasi tanaman dengan menggunakan DNA *barcoding* bisa dilakukan oleh siapa saja (yang bukan ahli taksonomi) asal memiliki pengetahuan dan ketrampilan teknis tentang DNA *barcoding* (Rahamdani, 2017).

Metode DNA *barcoding* ini diawali dengan tahap isolasi DNA total, dilanjutkan dengan tahap amplifikasi gen standar ribulosa-1,5-bisfosfat karboksilase (*rbcL*) atau maturase K(*matK*) menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan tahap sekuensing untuk mengidentifikasi sekuens DNA barcode pada tumbuhan. Gen standar ini digunakan untuk mempelajari keanekaragaman genetik tumbuhan berdasarkan sekuens DNA-nya. Perbedaannya, gen *matK* lebih sulit diamplifikasi tetapi memberikan resolusi yang lebih tinggi dalam membandingkan spesies tumbuhan, sedangkan gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasi, akan tetapi

resolusinya rendah untuk dapat membedakan beberapa spesies yang berkerabat dekat. Konfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen dilakukan dengan visualisasi melalui elektroforesis. Fragmen gen yang berhasil diamplifikasi akan dianalisis untuk sekuensing DNA (Hollingsworth *et al*, 2011).

2.3.1 Maturase-K (matK) dan Ribulosa-1,5-bifosfat karboksilase (rbcL)

Consortium for the Barcode of Life (CBOL) akhir-akhir ini merekomendasikan dua lokus *rbcL* dan *matK* sebagai lokus resmi untuk DNA *barcoding* tanaman darat (Hollingsworth *et al*, 2009). Gen *matK* lebih banyak digunakan dibandingkan dengan gen *rbcL* dalam berbagai penelitian, karena gen *matK* dapat membedakan sampai tingkat spesies (Barthet, 2006).

Gen *matK* memiliki tingkat evolusi yang tinggi dan urutan sekuen yang lebih bervariasi sehingga gen *matK* dianggap lebih baik dan lebih akurat dalam membedakan dan mengidentifikasi suatu jenis (Kolondam, 2012). *MatK* dapat mengamplifikasi gen pada DNA kloroplas (cpDNA). Gen kloroplas *matK* sebagian besar merupakan *variable gen coding* dari *Angiospermae* dan telah diusulkan untuk menjadi barcode pada tanaman (Yu *et al*, 2011).

Gen *rbcL* merupakan plastid pengkode yang paling banyak disimpan dalam GenBank. Data sekuen *rbcL* banyak digunakan untuk tingkatan taksonomi yang lebih tinggi (suku ke atas). Sekuen *rbcL* juga umum digunakan untuk mengetahui hubungan antar marga bahkan antar jenis pada tumbuhan paku (Soltis dan Soltis, 1998). Gen *rbcL* telah digunakan secara ekstensif untuk menduga filogeni tanaman termasuk sejumlah jenis *Gymnospermae*. Tetapi beberapa studi memperlihatkan urutan coding ini terkadang untuk menjelaskan hubungan antar taksa tanaman (Rahamdani, 2017).

Gen standar ini digunakan untuk mempelajari keanekaragaman genetik tumbuhan berdasarkan sekuens DNA-nya. Perbedaanannya, gen *matK* lebih sulit diamplifikasi tetapi memberikan resolusi yang lebih tinggi dalam membandingkan spesies tumbuhan, sedangkan gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasi, akan tetapi resolusinya rendah untuk dapat membedakan beberapa spesies yang berkerabat dekat. Konfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen dilakukan dengan visualisasi melalui elektroforesis. Fragmen gen yang berhasil diamplifikasi akan dianalisis untuk sekuensing DNA (Hollingsworth *et al*, 2011). Gen *matK* digunakan

sebagai gen pengkode yang disepakati untuk barcode DNA sejak tahun 2003 dan telah diuji melalui beberapa penelitian. Gen maturaseK (matK) diidentifikasi pertama kali oleh Sugita *et al* (1985) dari tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*).

2.3.2 Sekuensing DNA

Sekuensing DNA adalah proses penentuan urutan dari basa A, T, G, dan C dalam sepotong DNA. Pada intinya, DNA digunakan sebagai cetakan untuk menghasilkan serangkaian fragmen yang panjangnya berbeda satu sama lain oleh satu basa. Fragmen kemudian dipisahkan berdasarkan ukuran dan basis di akhir diidentifikasi menciptakan urutan asli DNA (Rahamdani, 2017).

Aplikasi utama dari sekuensing DNA dalam studi sistematik adalah: evolusi gen, termasuk studi dari proses yang menghasilkan level variasi sekuens (urutan basa), studi asal-muasal alel baru atau lokus baru, serta investigasi pemusatan (*convergence*) dan seleksi. Studi intraspesifik populasi, termasuk pelacakan organisme dan genealogi alel dalam spesies dan variasi geografik, aliran gen (*gen flow*), hibridasi, serta konservasi genetika, dan Studi interspesifik populasi, seperti rekonstruksi filogenetik untuk mengevaluasi pola dan proses evolusi makro (Hillis *et al*, 1996).

Keuntungan utama dari sekuensing DNA ini adalah keakuratan dan ketelitiannya yang mencapai lebih dari 98%, namun teknik ini juga memiliki kekurangan antara lain ketidakmampuannya untuk mengatasi rangkaian nukleotida yang panjang (lebih dari 900 nukleotida pada fragmen DNA dalam satu reaksi) (Rahamdani, 2017). Data hasil sekuensing yang sudah di analisis kemudian dimasukkan ke Genbank seperti BOLD, NCBI, DDBJ serta EBI. Output dari proses ini adalah informasi lengkap mengenai spesies (data morfologi, taksonomi, dan pendukung) yang kita masukkan bila spesies yang kita input sudah terdapat datanya di sistem. (Thompson *et al*, 1994).