

**DETERMINASI *Globba* sp. (ZINGIBERACEAE) ASAL
SUMATRA UTARA KOLEKSI KEBUN RAYA BOGOR
MENGUNAKAN *DNA BARCODING REGION INTERNAL
TRANSCRIBED SPACER***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



Oleh:

DEVI OCTAVIA

NIM. 1808016030

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO**

SEMARANG

2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Devi Octavia

NIM : 1808016030

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**Determinasi *Globba* sp. (Zingiberaceae) Asal Sumatra
Utara Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan DNA
*Barcoding Region Internal Transcribed Spacer***

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, Maret 2022
Pembuat Pernyataan



Devi Octavia
1808016030



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

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Determinasi *Globba* sp. (Zingiberaceae)
Asal Sumatra Utara Koleksi Kebun Raya
Bogor Menggunakan *DNA Barcoding Region
Internal Transcribed Spacer***

Penulis : Devi Octavia

NIM : 1808016030

Program Studi : Biologi

Telah diujikan dalam Sidang Munaqosyah oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang dan
dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
sarjana dalam ilmu Biologi

Semarang, Maret 2022

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Penguji II

...

NIP.

Penguji III

...

NIP.

Penguji IV

...

NIP.

Pembimbing I

...

NIP.

Pembimbing II

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc

NIP. 198709112018012001

Irfan Martiansyah, M.Si

NIP. 198503032019021002

NOTA DINAS

Semarang, Maret 2022

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

Assalamu'alaikum. wr.wb

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

Judul : Determinasi *Globba* sp. (Zingiberaceae) Asal Sumatra Utara Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan *DNA Barcoding Region Internal Transcribed Spacer*

Nama : Devi Octavia

NIM : 1808016030

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diujikan dalam sidang Munaqasyah

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing I,



Arnia Sari Mukaromah, M.Sc

NIP. 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, Maret 2022

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

Assalamu'alaikum. wr.wb

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

Judul : Determinasi *Globba* sp. (Zingiberaceae) Asal Sumatra Utara Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan *DNA Barcoding Region Internal Transcribed Spacer*

Nama : Devi Octavia

NIM : 1808016030

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diujikan dalam sidang Munaqasyah

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing II,



Irfan Martiansyah, M.Si
NIP. 198503032019021002

Abstrak

Zingiberaceae merupakan salah satu genus yang paling banyak belum teridentifikasi di Kebun Raya Bogor. Total 89 genus dari famili ini diketahui belum terkonfirmasi, salah satunya *Globba*. Kurang kuatnya data morfologi yang sering dipengaruhi oleh faktor lingkungan menjadikan penelitian *Globba* secara molekuler penting untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ciri karakter morfologi *Globba* sp. (Zingiberaceae) Asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor, menganalisis penggunaan metode *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS) untuk mendeterminasi *Globba* sp. secara molekuler, dan menganalisis kekerabatan filogenetik *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS).

Hasil penelitian menunjukkan sekuen ITS dari *Globba* sp. memiliki karakteristik berupa panjang sekuen 807 bp dengan persentase nukleotida T sebanyak 23,9%, nukleotida C 22,3%, nukleotida A 21,3 % dan nukleotida G sebanyak 32,5%. Hasil pohon kekerabatan menggunakan metode statistik UPGMA dan *Neighbor Joining* dengan nilai bootstrap 1000 menunjukkan *Globba* sp. berkerabat dengan *G. schomburgkii*, *G. sessiliflora* dan *G. marantina* yang mana hasil tersebut diperkuat dengan analisis ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*). Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa *Globba* sp. memiliki hubungan kekerabatan paling dekat dengan *G. schomburgkii* (KJ872143.1) dan berkerabatan paling jauh dengan *G. marantina* (KX065412.1). Nilai jarak genetik terendah (0,003) dimiliki oleh *Globba variabilis* sedangkan nilai tertinggi (0,102) dimiliki oleh sekuen *Alpinia japonica*.

Hasil analisis *DNA barcoding* menggunakan sekuen *region ITS* berhasil mendeterminasi spesies *Globba* sp.

Kata kunci: Determinasi, *DNA barcoding*, *Globba*

Abstract

Zingiberaceae is one of the most unidentified genera in the Bogor Botanical Gardens. A total of 89 genera of this family are known to be unconfirmed, one of which is *Globba*. The lack of strong morphological data which is often influenced by environmental factors makes *Globba* molecular research important to do. This study aims to identify the morphological characteristics of *Globba* sp. (*Zingiberaceae*) from North Sumatra from the Bogor Botanical Gardens collection, analyzed the use of the DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer (ITS) method to determine *Globba* sp., and analyzing the phylogenetic relationship of *Globba* sp. (*Zingiberaceae*) from North Sumatra from the Bogor Botanical Gardens collection using DNA barcode region Internal Transcribed Spacer (ITS).

The results showed that the ITS sequence from *Globba* sp. has the characteristics of a sequence length of 807 bp with a percentage of T nucleotides as much as 23.9%, C nucleotides 22.3%, A nucleotides 21.3% and G nucleotides 32.5%. The results of the phylogenetic tree using the UPGMA and Neighbor Joining statistical methods with a bootstrap value of 1000 show *Globba* sp. related to *G. schomburgkii*, *G. sessiliflora* and *G. marantina* which results were confirmed by ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) analysis. The phylogenetic tree analysis showed that *Globba* sp. has the closest relationship with *G. schomburgkii* (KJ872143.1) and has the most distant relationship with *G. marantina* (KX065412.1). The lowest genetic distance value (0.003) was owned by *G. variabilis* while the highest value (0.102) was owned by the *Alpinia japonica* sequence. The results of DNA barcoding analysis using the ITS region sequence succeeded in determining the species *Globba* sp.

Keywords: Determination, DNA barcode, *Globba*

KATA PENGANTAR

Puji syukur panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Sholawat dan salam senantiasa turunkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW keluarga, para sahabat dan para pengikutnya. Penyusunan skripsi dengan judul “Determinasi *Globba sp.* (Zingiberaceae) Asal Sumatra Utara Koleksi Kebun Raya Bogor Menggunakan *DNA Barcoding Region Internal Transcribed Spacer*” dimaksudkan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari berbagai pihak yang telah memberikan nasihat, bimbingan, arahan, serta dukungan dan do'a. Oleh sebab itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Imam Taufiq, M.Ag., Rektor Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
2. Dr. Ismail, M.Ag., Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si, Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang sekaligus

Dosen Wali yang telah mendampingi dan mengarahkan penulis selama 8 semester.

4. Arnia Sari Mukaromah, M.Sc, Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberikan kritik, saran, dan motivasi kepada penulis guna terselesaikannya skripsi ini.
5. Irfan Martiansyah, M.Si., Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk mengoreksi, membimbing, memberikan kritik, saran, dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Muhammad Rifqi Hariri, M.Si., Peneliti di Laboratorium Treub Kebun Raya Bogor yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama pengambilan data skripsi.
7. Segenap Staff Laboratorium Treub Kebun Raya Bogor yang telah memberikan izin, dan pengalaman kepada penulis guna penyusunan skripsi.
8. Segenap Dosen, Pegawai dan Civitas Akademik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan dan pemahaman.

9. Kedua Orang Tua, Ayahanda tercinta (Bapak Daiman) dan Ibunda tercinta (Ibu Waningsih) yang selalu memberikan do'a, nasihat, dukungan, semangat dan kasih sayang kepada penulis sehingga menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
10. Aji Permana Nursidiq yang telah memberikan doa, bantuan, dukungan dan semangat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
11. Mahasiswa Biologi dan Keluarga Besar Biosinapsis 2018 (Rifqi, Kiki, Akbar, Ramdhan) yang telah memberikan dukungan dan semangat selama menempuh studi.
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah mendukung demi terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karenanya, penulis mengharapkan kritikan dan saran agar penulis dapat memperbaiki tugas akhir ini. semoga naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca

Semarang, Maret 2022



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING	iv
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II LANDASAN PUSTAKA	7
A. Kajian Teori.....	7
1. Zingiberaceae	7
2. <i>Globba</i>	10
a. Klasifikasi.....	10
b. Habitus.....	11
c. Persebaran.....	12
d. Manfaat.....	13

3. <i>DNA Barcoding</i>	13
4. <i>Internal Transcribed Spacer (ITS)</i>	16
B. Hasil Penelitian yang Relevan	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
B. Alat dan Bahan.....	22
C. Metode Penelitian.....	23
1. Pengambilan Sampel	23
2. Karakterisasi Morfologi.....	24
3. Penggerusan Sampel	25
4. Isolasi DNA.....	25
5. Amplifikasi Sekuen ITS.....	26
6. Elektroforesis dan Visualisasi Gel Agarosa	27
7. Sekuensing.....	28
8. Pembacaan Data Sekuensing.....	28
9. Pencarian Sekuen (BLAST) <i>Genbank</i> NCBI.....	30
10. Penjajaran Sekuen	30
11. Analisis Data.....	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
A. Deskripsi Hasil Penelitian	33
1. Hasil Karakterisasi Morfologi <i>Globba</i> sp.	33
2. Hasil Isolasi & Amplifikasi DNA <i>Globba</i> sp.	35
3. Analisis <i>DNA Barcoding</i> <i>Globba</i> sp.....	37

B. Pembahasan Hasil Penelitian.....	45
BAB V PENUTUP.....	58
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	61
DAFTAR LAMPIRAN	68
1. Tabel Lampiran 1	68
2. Tabel Lampiran 2	69
3. Gambar Lampiran 1	71
4. Gambar Lampiran 2	72
5. Lampiran 1.....	73
6. Lampiran 2.....	74
7. Lampiran 3	75
RIWAYAT HIDUP	90

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 4.1	Karakter morfologi <i>Globba</i> sp.	33
Tabel 4.2	Pengelompokan sekuen menggunakan <i>Automatic Barcode Gap Discovery</i> (ABGD)	41
Tabel 4.3	Jarak genetik <i>Globba</i> sp.	42
Tabel 4.4	Perbandingan karakter morfologi <i>G. schomburgkii</i> , <i>G. marantina</i> dan <i>G. sessiliflora</i>	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Habitus <i>Globba</i> sp.	12
Gambar 2.2	Peta Persebaran <i>Globba</i>	13
Gambar 2.3	Skema DNA <i>Barcoding</i>	15
Gambar 2.4	Skematik <i>Barcode</i> ITS	17
Gambar 3.1	Peta lokasi penelitian	21
Gambar 3.2	Petak Zingiberaceae XI.B	24
Gambar 4.1	Habitus <i>Globba</i> sp.	35
Gambar 4.2	Visualisasi pita DNA <i>Globba</i> sp. menggunakan <i>region</i> ITS	36
Gambar 4.3	Visualisasi hasil pengecekan sekuensing menggunakan <i>region</i> ITS untuk pengecekan amplikon	36
Gambar 4.4	Filogram <i>Globba</i> sp. menggunakan metode UPGMA	38
Gambar 4.5	Filogram <i>Globba</i> sp. menggunakan metode <i>Neighbor Joining</i>	39
Gambar 4.6	Hasil divergensi intraspecific menggunakan ABGD	40
Gambar 4.7	Herbarium <i>Globba schomburgkii</i>	56

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Determinasi spesies merupakan proses penentuan identitas takson menggunakan takson lain yang sudah diketahui identitasnya sebagai data pembanding. Menurut KBBI determinasi merupakan upaya untuk menentukan, menetapkan, dan memastikan identitas individu (Badan Pengembangan dan pembinaan bahasa, 2016). Proses determinasi sangat penting dilakukan mengingat kawasan Asia Tenggara khususnya Indonesia masih memiliki flora dan fauna yang belum teridentifikasi. Keberagaman flora seperti pada Zingiberaceae menjadikan proses identifikasi morfologi masih sulit dilakukan terutama apabila tidak berbunga.

Upaya determinasi tumbuhan bertujuan menghindari kekeliruan agar dapat merujuk pada jenis yang spesifik. Upaya determinasi tumbuhan perlu dilakukan guna mengkonfirmasi spesies Zingiberaceae yang dikenal memiliki keragaman cukup tinggi. Identifikasi secara morfologi kurang memberikan bukti yang kuat untuk mengungkap identitas spesies. Beberapa hal seperti faktor ekologis juga turut mempengaruhi fenotip yang berakibat pada variasi morfologi yang tampak. Pendekatan molekuler dengan *DNA barcoding* menjadi cara yang cukup

efektif untuk mengungkap permasalahan determinasi tumbuhan.

Data koleksi Kebun Raya Bogor juga menunjukkan bahwa Zingiberaceae merupakan famili yang paling banyak belum teridentifikasi. Tercatat 89 genus dari famili ini belum terkonfirmasi karena tidak adanya peneliti secara khusus yang menangani. Permasalahan *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara dengan nomor koleksi XI.B.V.226 adalah sejak 7 Maret 2005 hingga saat ini *Globba* sp. tersebut belum terkonfirmasi sehingga pendekatan molekuler seperti *DNA barcoding* diharapkan mampu memecahkan persoalan terkait determinasi spesies. Determinasi menggunakan *DNA barcoding* dapat membedakan spesies yang memiliki kemiripan morfologi, mempercepat penamaan dan memberikan informasi genetik secara jelas sehingga cocok untuk diterapkan dalam penelitian ini (Rahayu dan Janah, 2019).

Internal Transcribed Spacer (ITS) merupakan *region non coding* yang memiliki laju mutasi tinggi. ITS diakui sebagai sebagai lokus yang efektif untuk *DNA barcode* pada tanaman (Kress *et al.*, 2005). Hasil pencarian similaritas sekuen (BLAST) NCBI juga menunjukkan bahwa ITS memiliki

kemampuan untuk mengidentifikasi spesies dengan tingkat keberhasilan mencapai 82,89% yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan *region* lain sehingga sangat prospektif digunakan sebagai *DNA barcode* pada famili Zingiberaceae (Vinitha *et al.*, 2014). *Region* lain seperti *matK* memiliki kemampuan amplifikasi yang lebih sulit sehingga tidak digunakan dalam penelitian ini. Sementara itu *rbcL* hanya digunakan untuk pengecekan DNA sehingga pada penelitian ini *region* ITS lebih dipilih sebagai *DNA barcode*. Alasan penggunaan sekuen *region* ITS juga didasarkan pada hasil data maining NCBI dan *software* Mega X dengan membandingkan penggunaan sekuen *region* lain seperti *rbcL*, *psbA-trnH*, *matK*, *trnQ*, *trnL*, dan ITS. Hasil pohon filogenetik *region* ITS paling baik dalam memisahkan antar spesies *Globba*. Sehingga determinasi *Globba* sp. asal Sumatra Utara menggunakan *DNA barcoding* ITS sangat penting dilakukan untuk membedakan antar spesies *Globba* lain secara molekuler.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana ciri karakter morfologi *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor?
2. Apakah metode *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS) dapat digunakan untuk mendeterminasi *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor secara molekuler?
3. Bagaimana kekerabatan filogenetik *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengidentifikasi ciri karakter morfologi *Globba* sp. (Zingiberaceae) Asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor;
2. Menganalisis penggunaan metode *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS) untuk mendeterminasi *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal

Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor secara molekuler;

3. Menganalisis kekerabatan filogenetik *Globba* sp. (Zingiberaceae) asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor menggunakan *DNA barcoding region Internal Transcribed Spacer* (ITS).

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini bagi masyarakat yaitu :

1. Memberikan wawasan kepada masyarakat umum mengenai nama dan karakter spesies *Globba* sp. yang ada di Kebun Raya Bogor setelah proses determinasi;
2. Dapat menghindari kekeliruan antar tanaman *Globba* (Zingiberaceae) sebagai bahan herbal.

Sedangkan manfaat penelitian ini bagi instansi yaitu:

1. Memberikan kontribusi dalam perkembangan sistem klasifikasi tanaman *Globba* sp. (*output* nama spesies);
2. Membantu memecahkan masalah determinasi spesies *Globba* yang ada di Kebun Raya Bogor sebagai kawasan konservasi *ex-situ* (informasi database Kebun Raya Bogor

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Zingiberaceae

Zingiberaceae merupakan famili terbesar dalam ordo Zingiberales yang terdiri dari 50 genus dan 1600 spesies yang tersebar di wilayah tropis seperti Afrika tropis, Asia, dan Amerika dengan pusat keanekaragaman tertinggi di Asia Tenggara. Zingiberaceae merupakan tumbuhan tahunan dengan habitus herba yang dapat tumbuh dengan baik di dataran rendah dan dataran tinggi hingga mencapai ketinggian 2000 mdpl. Daerah yang banyak ditumbuhi Zingiberaceae meliputi Malaysia, Singapura, Brunei Darussalam, Indonesia, dan Philipina, dan Papua Nugini (Lianah, 2020). Sementara itu terkait dengan keberagaman tumbuhan seperti Zingiberaceae tercantum dalam Al-Qur'an surah At-Thaha ayat 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَكَ لَكُمُ فِيهَا سُبُلًا وَ أَنْزَلَ مِنَ
السَّمَاءِ مَاءً ط فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ ثِبَاتٍ شَتَّىٰ ۝

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit.

Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan ini) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan”.

Tafsir ayat tersebut menjelaskan tentang “Allah yang menurunkan air dari langit, maka Allah tumbuhkan dengannya jenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”. Hal tersebut merupakan hidayah Allah SWT kepada manusia, hewan, dan tumbuhan untuk dimanfaatkan bagi kelangsungan hidup. Sebagaimana terdapat isyarat untuk bahwa Allah memberi hidayah kepada langit untuk menurunkan hujan agar tercurah sehingga tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi dapat tumbuh dengan beranekaragam (seperti jenis tumbuhan temu-temuan (Zingiberaceae) dan aneka jenis tumbuhan lain). Juga dalam firman-Nya “Dia yang telah menjadikan kamu bumi sebagai hamparan” yang menunjukkan bahwa keanekaragaman tumbuhan dan hewan yang ada di bumi merupakan hal yang sungguh menakjubkan dan membuktikan betapa agung ciptaan-Nya (Shihab, 2002).

Zingiberaceae merupakan herba dengan karakter berupa rimpang yang khas dan aromatik. Memiliki akar yang tebal berbentuk rimpang menjadikan tanaman dikenal dengan kelompok temu-temuan (Zingiberaceae). Bentuk daun roset akar atau berseling pada batang, bentuk bangun daun lanset

atau jorong, tangkai daun berbentuk pelepah dengan batang semu (Wasikhah, 2016). Bunga Zingiberaceae muncul di ujung pucuk daun atau langsung dari rimpang. Setiap bunga memiliki tiga mahkota yang menyatu menjadi tabung, tiga kelopak sebagian menyatu, dan satu lobus yang sering lebih besar dari dua lainnya dengan *staminode* (benang sari yang dimodifikasi) seperti kelopak, dan satu benang sari yang subur di setiap bunga. Bunga dari semua Zingiberaceae ditandai oleh satu benang sari fertil menonjol dengan lebar kepala sari pipih. *Globba* yang masuk dalam Zingiberaceae memiliki tangkai sari (*filamen*) melengkung besar terkait dengan bibir bunga (*labellum*) kecil. Zingiberaceae memiliki buah berbentuk kapsul, yang mungkin kering atau berdaging saat dewasa. Daun Zingiberaceae berbentuk sederhana, utuh dengan atau tanpa *ligula* (tonjolan tipis yang terletak pada batas antara pelepah dan helai daun). Batang Zingiberaceae merupakan rimpang yang tumbuh di permukaan tanah, atau tepat di bawahnya (Bayton dan Maughan, 2017).

Zingiberaceae memiliki aroma yang unik yang dihasilkan di semua bagian organ terutama pada rimpangnya. Famili Zingiberaceae banya dimanfaatkan sebagai bahan herbal, rempah-rempah, pewarna, kosmetik, parfum, dan tanaman

hias (Leong *et al.*, 2019; Chumroenphat *et al.*, 2021). Zingiberaceae terdiri dari sejumlah besar tanaman obat dan ditandai dengan adanya senyawa minyak, terpenoid dan oleoresins (campuran minyak atsiri dan resin). Bagian rimpang pada Zingiberaceae bersifat aromatik dan stimulan. Zingiberaceae digunakan sebagai tanaman hias, sayuran, rempah-rempah, pewarna alami, insektisida, dan obat-obatan sedangkan bagian ekstrak rimpangnya banyak digunakan dalam asupan diet dan herbal tradisional (Nurainas dan Arbain, 2017; Zahara, 2020).

2. *Globba*

a. Klasifikasi

Globba dikenal pula dengan sebutan "*Dancing lady ginger*" karena bentuk bunganya yang menyerupai wanita menari. *Globba* L. memiliki 9 sinonim seperti *Achilus* Hemsl., *Ceratanthera* T. Lestib., *Ceratanthera* Hornem., *Celebrookia* Donn ex T. Lestib., Hura J. Koenig., *Lampujang* J. Koenig., *Manitia* Giseke, *Mantisia* Sims, *Sphaerocarporus* J.F. Gmel. (Powo, 2017). Sementara itu beberapa lokal dari *Globba* di antaranya yaitu *Pedas kancil* (Palembang), *Jae kera* (Bangka) untuk menyebut *Globba Pendula* Roxb., *Susu perada* (Palembang) untuk menyebut *Globba antrosanguinea* Teijsm.

& Binn., *Patilungkup* (Sumatra) untuk menyebut *Globba fecunda* dan *Puar kilat* (Palembang) untuk menyebut *Globba* sp. yang dimanfaatkan sebagai biopestisida (Utami dan Haneda, 2010). Adapun klasifikasi *Globba* sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Liliopsida
Ordo : Zingiberales
Family : Zingiberaceae
Genus : *Globba*
Spesies : *Globba* sp. (Olander, 2020).

b. Habitus

Globba spp. memiliki habitus herba yang dapat tumbuh mencapai 40-100 cm, tangkai sari (*filamen*) bunga sangat panjang yang letaknya diatas bibir bunga (*labellum*), *bulbil* menjadi ciri khas pada beberapa spesies tertentu. Jumlah pelengkap kepala sari menjadi salah satu penanda karakter morfologi dari sub genus *Globba*. 4 tipe pelengkap kepala sari (*anther*) tersebut dikenali berdasarkan pelengkap kepala sari dengan 0, 2, atau 4 pelengkap kepala sari (Cao *et al.*, 2019). Adapun habitus *Globba* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.1.

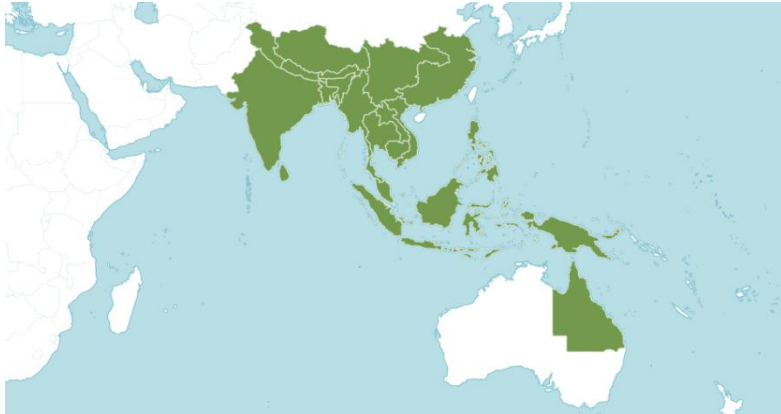


Gambar 2.1 Habitus *Globba* sp. asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor (Dokumentasi penelitian, 2021)

c. Persebaran

Globba banyak ditemukan di wilayah tropis dan dimanfaatkan sebagai tanaman hias atau tanaman obat di Asia Tenggara. Sekitar 100 spesies yang tersebar di seluruh wilayah Thailand, India dan Indonesia. *Globba* dapat ditemui Sri Lanka, India, Himalaya, China Selatan, semua negara Asia Tenggara, dan Australia Utara (Sangvirotjanapat *et al.*, 2020). 16 spesies *Globba* dengan lima varietas dapat ditemukan di seluruh pulau Sumatra (Takano dan Okada, 2003). Di Sumatra Utara 4 spesies *Globba* dilaporkan di Hutan Sibayak, yaitu *G. aurantiaca*, *G. paniculata*, *G. patens* dan *G. pendula*. Berdasarkan eksplorasi *G. pendula* Roxb. adalah spesies *Globba* yang paling sering ditemukan di Taman Hutan Raya (Lutfia *et*

al., 2019). Adapun peta persebaran *Globba* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Peta persebaran *Globba*.
Warna hijau menunjukkan spesies *Globba* asli (*native*) dari wilayah tersebut (POWO, 2019)

Koleksi *Globba* di Kebun Raya Bogor di antaranya yaitu *G. marantina* L. (Kalimantan), *G. paniculata* Valetton (Sumatra Utara), *G. pendula* Roxb. (Jawa Barat; Kalimantan Tengah; Malaysia bagian Barat), *G. schomburgkii* Hook.f. (Jerman; Sumatra; Riau), *G. variabilis* Ridl. (Sumatra Utara; Kalimantan Tengah; Kalimantan Selatan), dan *Globba* sp. (Kalimantan Barat; Sumatra Utara; Bengkulu; Sumatra Barat) dengan nomor koleksi yang berbeda-beda (Ariati *et al.*, 2019).

d. Manfaat

Manfaat tanaman *Globba* antara lain sebagai obat rheumatik dan obat cacing (rimpang *Globba pendula* Roxb.), sebagai tanaman hias (*Globba schomburkii* Hook. f.), sebagai obat asma dan obat konjungtivitis mata (daun *Globba marantina* Linn.), sebagai obat batuk (rimpang *Globba Multiflora*), sebagai sayuran (daun muda segar atau daun rebusan *G. schomburgkii*), untuk mengobati keracunan makanan (air perasan rimpang dan air rebusan biji *G. clarkei* Baker.) (Munawaroh, 2020; Shahzad dan Ahmad, 2017).

3. DNA Barcoding

DNA barcoding merupakan penggunaan sekuen DNA berukuran pendek dalam genom untuk keperluan identifikasi spesies. *DNA barcoding* dapat mengurutkan DNA dalam gen sehingga terdeteksi dengan baik (Purty dan Chattarjee, 2016). *DNA barcoding* menjadi salah satu metode taksonomi yang digunakan untuk mengidentifikasi organisme dengan penanda (*marker*) genetik tertentu sehingga mengacu pada satu penamaan spesies (Lima *et al.*, 2018; DeSalle dan Goldstein 2019). Adapun teknik *DNA barcoding* ditampilkan pada Gambar 2.3.

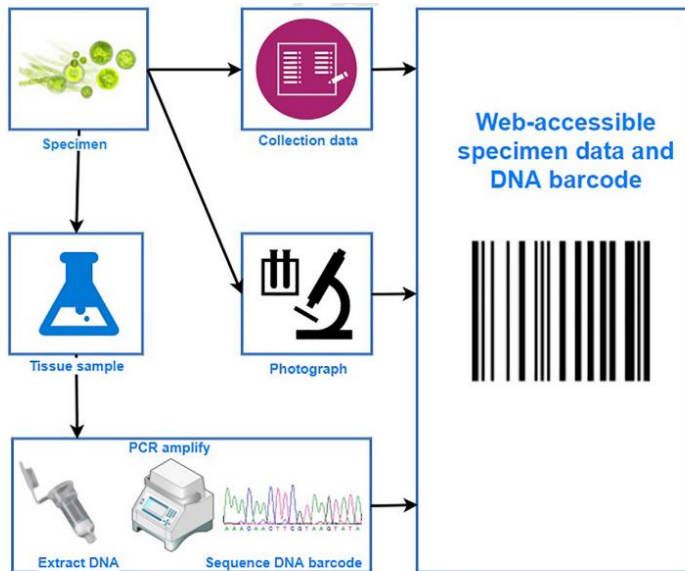


Fig. 1. Application of DNA barcoding technique for new species identification.

Gambar 2.3 Teknik *DNA Barcoding*

(Kowalska, 2019)

DNA barcoding sebagai salah satu pendekatan molekuler memiliki kemampuan untuk membedakan organisme berdasarkan daerah spesifik dari DNA genom. *DNA barcoding* cukup efektif untuk mengidentifikasi spesimen menggunakan fragmen berukuran sangat pendek (gen penanda). Gen penanda tersebut dapat berupa *MaturaseK* (*matK*), *Rubisco* (*rbcL*), dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Gen tersebut berperan penting dalam identifikasi spesies, distribusi genetik

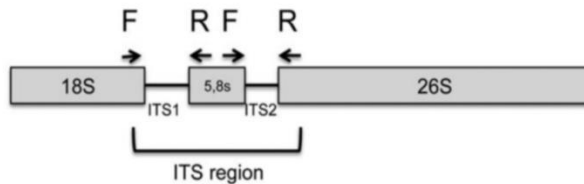
spesies serta rekonstruksi filogenetik tanaman (Martiansyah, 2021).

Identifikasi spesies dengan *DNA barcoding* dimulai dari pengkoleksian sampel yang diperkuat oleh hasil reaksi polimerase (PCR). Urutan sekuen yang diperoleh merupakan representasi dari empat nukleotida spesifik yaitu adenin, sitosin, guanin, timin dilambangkan dengan serangkaian huruf ACGT, masing-masing (Kowalska *et al.*, 2018). Sekuen DNA dianggap membantu sebagai *barcode* ketika sesuai dengan 3 kriteria dasar yaitu memiliki variabilitas genetik sehingga mampu mendiskriminasi spesies, sekuen dengan lengan pendek untuk memfasilitasi ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR, serta memiliki bagian konserve yang mengapit untuk pengembangan primer universal di semua takson yang berbeda (Giudicelli *et al.*, 2015).

4. Internal Transcribed Spacer (ITS)

Region ITS memiliki karakteristik yang dapat digunakan dalam analisis filogenetik karena panjangnya kurang dari 700 *base pair* dan memiliki salinan yang banyak dalam genom inti. ITS memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi dalam amplifikasi PCR, sekuensing dua arah (*forward dan reverse*) dan tingkat variasi yang tinggi, dan tingkat variasi yang tinggi

bahkan di antara spesies yang berkaitan erat (Letchuman, 2018; Zhang *et al.*, 2013). *Internal Transcribed Spacer* (ITS) memiliki dua *sub-region* yaitu ITS1 dan ITS2. *Sub-region* (ITS2) telah diusulkan sebagai DNA standar penanda *barcode* pada jamur dan tanaman (Schoch *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2011). Adapun skematik *barcode* ITS ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Skematik *barcode* ITS
(Besse, 2021)

ITS muncul dan memiliki rentang takson terbesar di antara semua DNA *barcode* yang diusulkan dan tetap menjadi salah satu DNA paling populer penanda *barcode*. *Sub region* ITS2 telah diuji secara luas digunakan sebagai DNA *barcode* yang optimal misalnya pada ganggang dan tumbuhan (Gao *et al.*, 2010; Buchheim *et al.*, 2011). *Region* ITS1 jarang dilaporkan dan dievaluasi sebagai *barcode* DNA atau digunakan sebagai DNA *barcode* untuk identifikasi spesies kecuali pada tanaman tertentu (Wang *et al.*, 2013).

ITS1 berkinerja lebih baik karena memiliki daya diskriminasi lebih tinggi dengan keunggulan yang lebih terkonservasi untuk amplifikasi PCR daripada ITS2 dalam lebih banyak kelompok taksonomi, dan secara keseluruhan mewakili DNA *barcode* yang lebih baik daripada ITS2 pada eukariota. ITS1 memiliki tingkat keberhasilan identifikasi spesies sebesar 76,1% pada *Cyperaceae*. ITS1 memiliki identifikasi tingkat keberhasilan 75,4% pada lumut, 89,4% pada pakis, 90,4% pada *Gymnospermae*, 71,3% pada monokotil dan 76,3% pada eudikotil. ITS1 juga ditemukan lebih unggul dari beberapa penanda lainnya, termasuk 6 *region* DNA (*rbcL*, *matK*, *trnL-F*, *psbA-trnH*, ITS dan ITS2) dan 3 kombinasi (*rbcL+matK*, *psbA-trnH+ITS1* dan *trnL-F+ITS1*) untuk membedakan spesies *Salvia* (*Lamiaceae*) dengan akurasi 81,48% (Wang *et al.*, 2013). ITS1 berkinerja lebih baik karena memiliki kemampuan identifikasi dengan akurasi tinggi dalam mendiskriminasi spesies daripada DNA *barcode* lainnya (Wang *et al.*, 2015).

B. Hasil Penelitian yang Relevan

Penelitian tentang *Globba* Sumatra pertama kali dilakukan oleh Takano Okada pada tahun 2003. Dalam publikasinya tersebut, Takano Okada mendeskripsikan taksonomi *Globba* Sumatra dilengkapi dengan karakter morfologi, ilustrasi gambar dan kunci determinasi. Spesies yang tercantum dalam publikasi Takano Okada meliputi *G. Leucantha* Miq., *G. paniculata* Valetton, *G. pendula* Roxb., *G. albobracteata* N. E. Br, *G. antrosanguinea* Teijsm & Binn, *G. aurantiaca* Miq., *G. acehensis*, *G. fecunda*, *G. flavibracteata*, *G. haseltii*, *G. multifolia*, *G. patens* Miq., *G. talangensis*, dan *G. variabilis* Ridl. Takano dan Okada tahun 2003 juga melaporkan 4 spesies baru dan satu varietas *Globba antrosanguinea* dari Sumatra Indonesia. Sehingga total 16 spesies dan 5 varietas *Globba* yang dikenal dari Sumatra termasuk 1 varietas baru yaitu *Globba multifolia* (Takano dan Okada, 2003).

Penelitian *Globba* Sumatra berlanjut pada tahun 2010 oleh (Syamsuardi *et al.*) yang menjelaskan tentang variasi morfologi polen genus *Globba* (Zingiberaceae) di Sumatra Barat berpotensi sebagai analisis terhadap beberapa *Globba* spp. secara mikroskopis. Penelitian yang berbeda kembali dipublikasikan oleh Cao *et al.*, 2019 tentang asal-usul

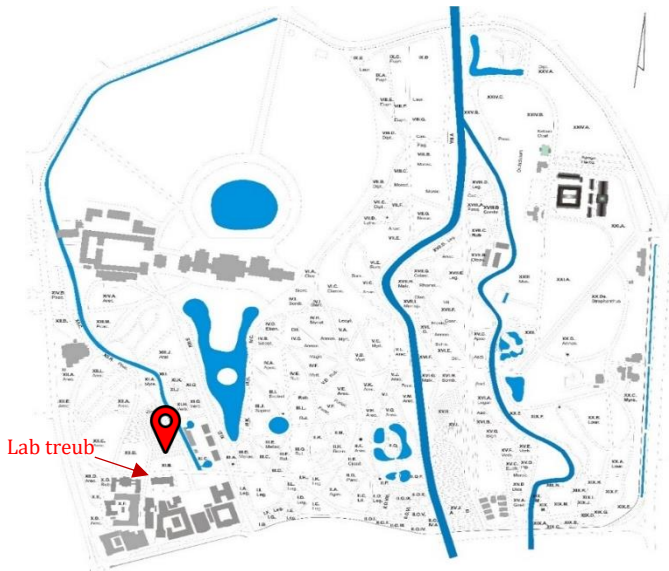
pelengkap kepala sari (*anther appendages*) pada *Globba* yang disebutkan dapat menjadi bukti perkembangan dan membantu menyelesaikan evolusi. Jumlah pelengkap kepala sari (*anther appendages*) menjadi diagnostik utama dan digunakan pula data molekuler untuk mendefinisikan bagian sub-genus *Globba*. Nurkolidah 2019 juga mendeskripsikan karakterisasi morfologi dan *DNA barcoding* *Globba antrosanguinea* Teijsm & Binn. asal Kalimantan. Dalam penelitiannya tersebut menghasilkan 3 kelompok yang memiliki perbedaan helai daun. *DNA barcoding* ITS dapat membedakan hubungan filogenetik antara *Globba* tersebut namun tidak dapat mendeterminasi antar aksesori *G. antrosanguinea* dengan jenis lain akibat variasi nukleotida yang sangat rendah.


BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-Februari 2021 di Laboratorium Treub, Pusat Riset Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Bogor, Jawa Barat. Analisis data dilakukan pada bulan November-Desember 2021. Adapun peta lokasi penelitian dan pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan  petak Zingiberaceae XI.B
Gambar 3.1 Peta lokasi penelitian
(Bidang Registrasi Kebun Raya Bogor, 2021)

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *thermocycler* (Takara), *spindown*, sentrifuse (Spectrafuge 24 D), *heatblock* (VWR), *vortex* (VWR), *UV trans-illuminator gel documentation system* (EZ imager Bio-Rad), komputer (Dell), *microwave* (Sharp), mikropipet (Eppendorf), tabung mikro, timbangan analitik (Precisa XT220A), Erlenmeyer (Iwaki), gelas beaker, mortar, pistil, set elektroforesis (Mupid-EXU), *frezeer* (Sharp), gunting stek, spatula, aluminium foil, sarung tangan kain dan pinset.

2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu sampel daun, kit ekstraksi DNA Tiangen (DP305) yang terdiri dari kloroform (Thermo 1.02445.2500), *buffer* GP1, *buffer* GP2, *buffer* GD, *buffer* PW, *buffer* TE, dan *elution buffer, nuclease free water* (ddH₂O), etanol 96%, gel agarosa 1% atau 0,8 gr (thermoscientific 100 gr R0491), larutan TAE 1x 80 ml (Thermo scientific 50 x 1 B49), Gelred (Biotium Cat 41003), primer ITS *Forward* (5'-ACGAATTCATGGTCCGGTGGAGTGTTC-3') dan *Reverse* (5'-TAGAATTCCTCGCTCGCCGTTAC-3') (Sun *et al.*, 1984), PCR mix *taq polymerase* (my Taq), *ladder* 1 kb (Thermo

Scientific). Rincian bahan yang digunakan dalam proses isolasi, amplifikasi dan elektroforesis disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Bahan-bahan penelitian

No	Tahapan	Bahan
1	Isolasi DNA	Daun <i>Globba</i> sp., pasir silika, kloroform, <i>Plant genomic DNA kit</i> (Tiangen).
2	Amplifikasi	DNA daun <i>Globba</i> sp., Taq <i>polymerase</i> (Mytaq), ddH ₂ O, primer ITS <i>forward</i> dan <i>reverse</i> .
3	Elektroforesis	Serbuk gel agarosa (Thermoscientific R0491), <i>buffer</i> TAE (Thermoscientific 50X HB49), Gelred (Biotium 41003), marker (Thermoscientific SM311 1 kb DNA <i>ladder</i>).

C. Metode

1. Pengambilan Sampel

Sampel *Globba* sp. diambil di petak Zingiberaceae (XI.B). Sampel tersebut dipotong menggunakan gunting stek dengan arah potongan dari bawah batang. Sampel dimasukkan dalam plastik klip untuk dilakukan karakterisasi. Adapun titik lokasi pengambilan sampel (a), kondisi petak Zingiberaceae (b), dan papan identitas koleksi pada petak Zingiberaceae XI.B (c) dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 (a) titik lokasi pengambilan sampel
 (b) kondisi petak Zingiberaceae
 (c) papan identitas koleksi pada petak Zingiberaceae XI.B
 (Dokumentasi penelitian, 2021)

2. Karakterisasi Morfologi

Karakter morfologi yang diamati antara lain bangun daun, panjang daun, lebar daun, ujung daun, pangkal daun,

permukaan abaksial, adaksial, tipe pertulangan daun, sifat daging daun, permukaan tangkai daun, tipe daun) batang (meliputi permukaan batang, warna batang), dan bunga (meliputi tipe perbungaan, bentuk bunga, warna bunga, ornamen bunga, warna kelopak, warna mahkota).

3. Penggerusan Sampel

Sampel daun *Globba* sp. dikeringkan dalam plastik klip berisi silika gel. Seperempat bagian sampel daun yang telah kering digunting kecil-kecil kemudian ditambahkan pasir silika sebanyak 1-2 sendok spatula. Sampel dihaluskan dengan mortar dan pistil kemudian dimasukkan dalam tabung mikro 1,5 ml dan 2,0 ml sebagai stok sampel.

4. Isolasi DNA

Sebanyak 50-100 mg serbuk sampel daun *Globba* sp. dimasukkan dalam tabung mikro 1,5 ml untuk diisolasi sesuai protokol kit ekstraksi DNA Tiangen. Sampel diberi larutan *buffer* GP1 sebanyak 700 μ l kemudian *vortex* dan diinkubasi selama 20 menit dalam *heatblock* dengan suhu 65°C (tiap 5 menit *diinvert*). Sampel ditambahkan kloroform 700 μ l lalu *invert* dan disentrifugasi 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Hasil supernatan diambil sebanyak 700 μ l dan dipindahkan ke tabung mikro baru (2 ml). Supernatan

ditambahkan *buffer* GP 2 sebanyak 700 μ l kemudian *invert*. Tabung *spin column* dan *filter* dari kit Tiangen disiapkan kemudian larutan dari tabung 2 ml tersebut diambil sebanyak 700 μ l. Tabung disentrifugasi kembali selama 30 detik dengan kecepatan 12.000. Larutan pada tabung *spin column* dibuang. Sisa larutan sebanyak 700 μ l diambil pada tabung mikro sebelumnya. *Buffer* GD ditambahkan sebanyak 500 μ l dan dilanjutkan sentrifugasi selama 30 detik dengan kecepatan 12.000 rpm. Larutan di bawah tabung *spin column* dibuang. Tabung *spin column* ditambahkan *buffer* PW sebanyak 700 μ l kemudian disentrifugasi kembali selama 30 detik dengan kecepatan 12.000 rpm. Tabung ditambahkan kembali dengan *buffer* PW 500 μ l dan dilanjutkan sentrifugasi selama 2,5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Larutan di bawah *spin column* dibuang. Tabung *spin column* tersebut ditambahkan *buffer* TE 100 μ l dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12.000 rpm.

5. Amplifikasi sekuen ITS

Larutan PCR mix dibuat dengan komposisi primer *Forward* sebanyak 1,5 μ l, primer *Reverse* 1,5 μ l, *Taq polymerase* (myTaq) sebanyak 25 μ l, dan ddH₂O 17 μ l. Semua bahan tersebut

dimasukkan dalam tabung mikro 1,5 ml. DNA sampel sebanyak 5 μ l dimasukkan dalam tabung mikro PCR. Tabung mikro disusun dalam alat Thermalcycler dan dilakukan pengaturan jenis primer pada mesin Thermalcycler. Adapun rincian PCR meliputi tahap pra-denaturasi yang dilakukan selama 3 menit pada suhu 95°C, tahap denaturasi 30 detik suhu 95°C, *annealing* 45 detik suhu 58°C, elongasi 45 detik suhu 72°C, dan *final extention* selama 5 menit pada suhu 72°C dengan jumlah siklus 35.

6. Elektroforesis dan Visualisasi Gel agarosa

Sebanyak 0,8 gram serbuk agarosa dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditimbang dan ditambahkan TAE 80 ml. Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan karet kemudian aluminium foil diberi rongga udara. Erlenmeyer berisi serbuk agarosa dan TAE dipanaskan menggunakan *microwave* hingga mendidih selama 1 menit. Larutan agarosa yang sudah mendidih didiamkan 5 menit kemudian ditambahkan gel red sebanyak 1 μ l. Erlenmeyer digoyangkan secara perlahan kemudian gel dituangkan pada cetakan elektroforesis. Gel agarosa yang sudah padat kemudian dilepaskan dari cetakan. Gel diletakan pada alat elektroforesis.

Sampel hasil PCR dimasukan dalam sumuran gel dengan menggunakan mikropipet sebanyak 5 μ l. *Ladder* 1 kb ditambahkan sebanyak 3 μ l. Alat elektroforesis diberi tegangan 100 voltase kemudian tombol *power* dinyalakan. Proses elektroforesis ditunggu selama 30 menit. Gel hasil elektroforesis diletakan di atas *UV tray* secara perlahan agar tidak robek. *UV tray* dimasukan dalam *gel documentation*, kemudian tombol *power* pada *gel doc* dinyalakan. Tombol *run* pada komputer ditekan untuk melihat visualisasi pita DNA.

7. Sekuensing DNA

Sampel hasil pengecekan DNA dalam tabung mikro ditutup rapat dan diberi selotip agar tidak menguap. Tabung mikro dimasukan dalam plastik klip dan diberi label. Sampel kemudian dikirimkan ke *1st Base DNA Sequencing Division* Singapura melalui jasa PT Genetika Science Indonesia.

8. Pembacaan Data Sekuensing

Data hasil sekuensing berupa *forward* dan *reverse* dibuka menggunakan *software* Mega X. Menu *align* dipilih kemudian *create new alignment*. Tipe data DNA dipilih untuk menampilkan sekuen. *Sequence 1* dihapus kemudian data dipanggil dengan cara *view/edit trace data from DNA sequence*. Data sekuen *forward* dan *reverse* yang muncul dalam bentuk

kromatogram dilanjutkan dengan *add unmasked sequence to alignment explorer* pada sekuen *forward*. Sedangkan pada sekuen *reverse* dilakukan pembalikan urutan nukleotida agar posisi ujung belakang menjadi ujung depan dengan menu *reverse complement sequence*. *Pict* kromatogram ditutup dengan pilihan *no* agar data sekuensing tetap utuh dan tidak berubah. Sekuen dilakukan *trimming* sebanyak 20 sekuen pada menu tab *alignment explorer* untuk merapihkan hasil konsensus pada ujung depan dan belakang. Pemotongan (*trimming*) 20 nukleotida pada ujung depan dan ujung belakang saat penjajaran (*alignment*) bertujuan untuk merapihkan sekuen. *Alignment by clustalW* dipilih untuk melihat kesamaan urutan nukleotida. Tab *insert* dipilih, kemudian *insert blank sequence* ditekan dan diberi nama sampel *Globba* untuk membuat konsensus. Sekuen yang paling baik di antara *forward* dan *reverse* dipilih (sekuen yang paling baik pada penelitian ini yaitu *forward*). Bagian sekuen tersebut disalin dan bagian sekuen yang kosong dilengkapi dengan sekuen *reverse*. Bagian nukleotida yang kosong dapat dilakukan pengeditan basa nitrogen (ATGC) dengan pengecekan bukit atau *pict* kromatogram. Bagian sekuen *forward* dan *reverse* dihapus. Hasil *contig* disimpan dengan

cara data, *export alignment*, format fasta file dan mega file. Data *contig* kemudian dibuka pada notepad agar sekuen dapat disalin pada saat BLAST di NCBI.

9. Pencarian Sekuen (BLAST)

Genebank NCBI dibuka kemudian *Basic Local Alignment Search Tools* (BLAST) dan BLASTn (nukleotida) dipilih untuk mencari similaritas sekuen. Urutan nukleotida hasil konsensus sekuen (*contig*) disalin dan ditempelkan pada kolom *enter fasta sequence*. *High similar sequence mega* dipilih kemudian BLAST. Sekuen dipilih berdasarkan *e-value* dan *percent identity* tertinggi. 17 sekuen *Globba* ITS dan satu *outgroup* dipilih untuk membuat pohon filogenetik. Sekuen yang akan dipilih dicentang dan disimpan dengan fitur *download (aligned sequence)*.

10. Penjajaran sekuen (*Multiple Sequence Alignment*)

Hasil BLAST NCBI dimasukkan dalam *software* Mega X untuk disejajarkan. *Software* Mega X dibuka kemudian edit dan *insert sequence from file* untuk menampilkan sekuen. Nama sekuen diedit (nomor aksesori dan nama spesies yang dicantumkan). Semua sekuen dipilih dilanjutkan dengan *alignment by clustal W* untuk melihat nukleotida yang *conserve* dan varian. Sekuen disimpan dengan *export alignment fasta file* atau *mega file*.

11. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara komputasi menggunakan *Molecular Evolutionary Genetics Analysis X* (Mega X). Hasil analisis data berupa pohon kekerabatan, jarak genetik, dan pengelompokan sekuen berdasarkan *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD). Fitur *phylogeny* pada Mega X dipilih untuk rekonstruksi pohon kekerabatan. *Construct/test UPGMA tree* dipilih untuk membentuk pohon. *Fasta file* hasil *multiple sequence alignment* dipilih kemudian dikonfirmasi dengan *input data options nucleotide sequence*. Notifikasi yang muncul, ditekan *no* pada *protein coding*. Data sekuen (*fasta file*) dimasukkan pada bagian *phylogeny reconstruction*. *Bootstrap method* dipilih dengan nilai ulangan 1000 dan model *kimura-2 parameter*. Hasil pohon kekerabatan disimpan dengan *save as pdf*. Pada metode statistik *Neighbor Joining* dilakukan hal yang sama yaitu *construct/ test Neighbor Joining*. Analisis jarak genetik menggunakan *software* Mega X dibuat dengan menu *distance, pairwise distance*, file dimasukkan, kemudian *nucleotida sequence* pada *input data option* dipilih. *Protein coding nucleotide sequence* data ditekan *no* kemudian *analysis preferences* diisi dengan *bootstrap method 1000*, model *kimura*

2-parameter dan *pairwise deletion*. Simpan hasil data matrik dengan menu *export distance an excell file*. Data berikutnya dianalisis menggunakan situs *website Automatic Barcode Gap Discovery*(ABGD)<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html> untuk mengetahui celah *barcode (gap)* yang akan mendeterminasi spesies berdasarkan jarak interspesifik dan intraspesifik (*group*). *Mozilla firefox* dibuka kemudian link tersebut diketik pada kolom pencarian. Fasta file hasil *alignment* dipilih dan diubah nilai Pmax menjadi 0,03. *Select distance kimura* digunakan sedangkan pengaturan lainnya dibiarkan secara *default*. Tombol *go* dan *continue* ditekan. Tombol *here* ditekan untuk melihat hasil ABGD. Tanda bintik kuning juga ditekan untuk melihat pengelompokan spesies.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Hasil Karakterisasi Morfologi *Globba* sp.

Karakter *Globba* sp. asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor dengan nomor koleksi XI.B.V.226 disajikan pada Tabel 4.1. Hasil karakterisasi diperoleh 20 parameter yang meliputi organ daun, bunga, dan batang.

Tabel 4.1 Karakter Morfologi *Globba* sp.

No	Parameter	Deskripsi
1	Panjang helai daun	20-26 cm
2	Lebar daun	5-9 cm
3	Bangun daun	Memanjang
4	Pangkal daun	Tumpul
5	Ujung daun	Meruncing
6	Permukaan abaksial	Berlilin dan berambut
7	Permukaan adaksial	Licin
8	Warna daun muda	Hijau kekuningan
9	Warna daun tua	Hijau
10	Tipe daun	Majemuk
11	Pertulangan daun	Menyirip
12	Daging daun	Tipis selaput
13	Permukaan tangkai daun	Halus
14	Habitus	Herba
15	Permukaan batang	Halus

Tabel 4.1 Lanjutan

No	Parameter	Deskripsi
16	Warna batang	Ujung batang hijau pangkal batang merah
17	Tipe perbungaan	Majemuk tak terbatas dengan letak bunga di ujung (terminal)
18	Warna mahkota bunga	Kuning oranye
18	Warna kelopak bunga	Hijau kekuningan
20	Warna bibir bunga (<i>labellum</i>)	Kemerahan

Habitus *Globba* sp. berdasarkan dokumentasi penelitian ditampilkan pada Gambar 4.1



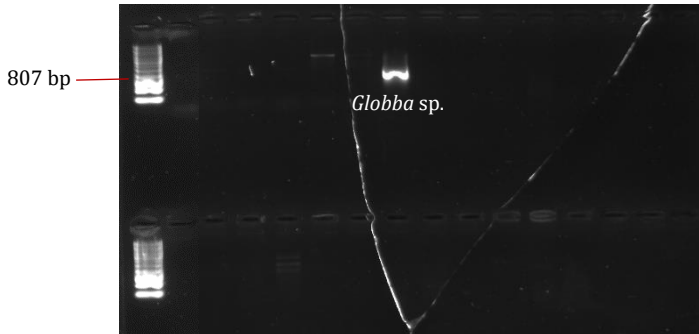


Gambar 4.1 Morfologi *Globba* sp. nomor koleksi XI.B.V.226
 (a) Habitus (b) Daun (c) Bunga (d) Bulbil (e) *corolla*
 (Dokumentasi penelitian, 2021)

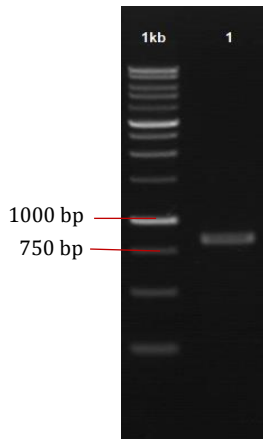
2. Hasil Isolasi dan Amplifikasi DNA *Globba* sp.

Isolasi DNA *Globba* sp. menggunakan kit Tiangen berhasil memisahkan molekul DNA dari komponen sel dengan cukup baik. Hasil isolasi dan amplifikasi yang didapat telah sesuai

target, yaitu ± 807 bp. Adapun visualisasi amplicon *Globba* sp. dapat dilihat pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Amplicon sampel *Globba* sp. nomor koleksi XI.B.V.226 hasil elektroforesis produk PCR

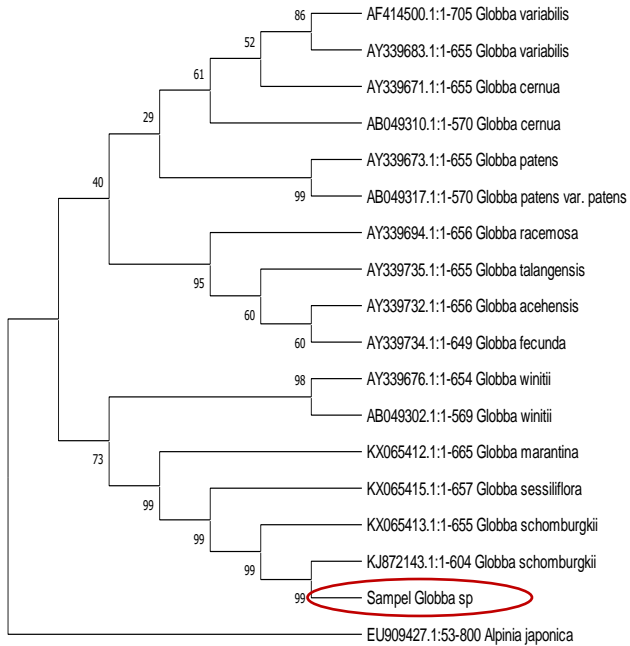


Gambar 4.3 Hasil visualisasi elektroforesis sebelum sekuensing

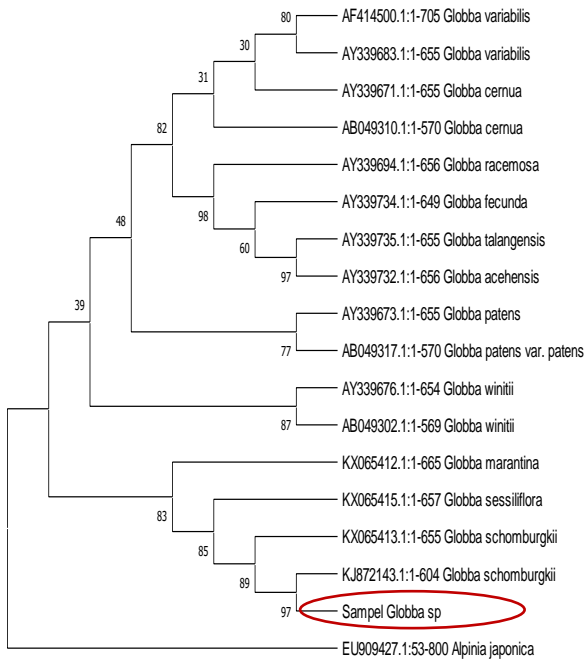
3. Analisis *DNA Barcoding Globba sp.*

Analisis *DNA barcoding* dilakukan dengan membandingkan sekuen *Globba sp.* dengan sekuen yang ada pada *genebank* (NCBI). Data sekuen yang dibandingkan berasal dari konsensus sekuen (*contig*) yang datanya ditampilkan pada Lampiran 2. Analisis tersebut menggunakan metode pencarian sekuen (BLASTn) pada laman (<https://BLAST.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil BLASTn disajikan pada Tabel lampiran 2.

17 sekuen hasil BLASTn dari *Globba spp. region ITS* dipilih untuk dilakukan proses penjajaran sekuen (*alignment*) dan rekonstruksi pohon filogenetik. Karakter sekuen yang disejajarkan ditampilkan pada Lampiran 3. Hasil penjajaran sekuen juga menunjukkan perbedaan komposisi nukleotida tiap spesies. Perbedaan komposisi nukleotida ditampilkan pada Tabel lampiran 1. Rekonstruksi pohon filogenetik dibentuk menggunakan metode statistik UPGMA dan *Neighbor Joining* dengan nilai bootstrap replications 1000. Hasil pohon filogenetik (filogram) ditampilkan pada Gambar 4.4 dan Gambar 4.5.



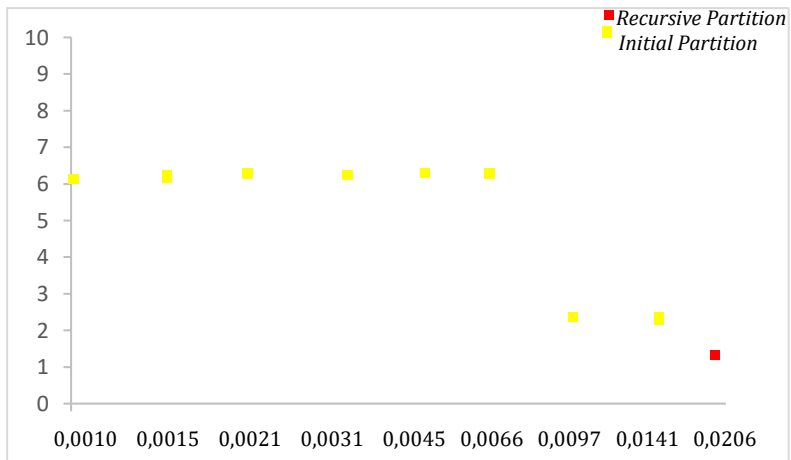
Gambar 4.4 Filogram *Globba* menggunakan metode statistik UPGMA



Gambar 4.5 Filogram *Globba* menggunakan metode statistik *Neighbor Joining*

Analisis *DNA barcoding* dilanjutkan dengan menentukan nilai jarak genetik menggunakan *pairwise distance* yang datanya ditampilkan pada Tabel 4.3. Data *DNA barcoding* juga diperkuat dengan penentuan *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) untuk mengelompokan sekuen berdasarkan celah

barcode dan membagi sekuen menjadi beberapa kelompok. Hasil analisis ABGD disajikan pada Tabel 4.2. Analisis *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) juga akan menentukan letak celah (*gap*) pada sekuen berdasarkan jarak intraspesifik dan interspesifik. Adapun hasil divergensi intraspesifik pengelompokan spesies menggunakan ABGD ditampilkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Divergensi intraspesifik pengelompokan spesies menggunakan ABGD. Sumbu X menunjukkan jumlah *group* yang terbentuk dari pengelompokan sekuen. Sumbu Y menunjukkan *prior intraspecific divergence* atau nilai perbedaan jarak genetik antar spesies dalam satu kelompok (*intraspecific*).

Tabel 4.2 Pengelompokan sekuen menggunakan *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD)

Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6
AF41450 0.1 <i>G. variabilis</i>	KX065412. 1 <i>G. marantina</i>	AY339 676.1 <i>G. wintii</i>	AY33967 3.1 <i>G. patens</i>	AY33973 5.1 <i>G. talangensis</i>	EU90942 7.1 <i>G. Alpinia japonica</i>
AY33967 1.1 <i>G. cernua</i>	KX065415. 1 <i>G. sessiliflora</i>	AB049 302.1 <i>G. wintii</i>	AB04931 7.1 <i>G. patens</i> <i>var patens</i>	AY33973 2.1 <i>G. acehensis</i>	
AY33968 3.1 <i>G. variabilis</i>	KX065413. 1 <i>G. schomburgkii</i>			AY33973 4.1 <i>G. fecunda</i>	
AB04931 0.1 <i>G. cernua</i>	KJ872143.1 <i>G. schomburgkii</i>			AY33969 4.1 <i>G. racemos a</i>	
	Sampel <i>Globba</i> sp.				

Tabel 4.3 Jarak genetik sekuen *Globba* spp. menggunakan model *kimura-2 parameter*

AF414500.1 <i>G.</i> <i>variabilis</i>								
KX065412.1 <i>G.</i> <i>marantina</i>	0,0 15							
KX065414.1 <i>G.</i> <i>sessiliflora</i>	0,0 14	0,0 00						
KX065413.1 <i>G.</i> <i>schomburgkii</i>	0,0 14	0,0 00	0,0 00					
AY339676.1 <i>G.</i> <i>wintii</i>	0,0 11	0,0 08	0,0 08	0,0 08				
AY339671.1 <i>G.</i> <i>cernua</i>	0,0 03	0,0 11	0,0 11	0,0 11	0,0 14			
AY339683.1 <i>G.</i> <i>variabilis</i>	0,0 00	0,0 14	0,0 14	0,0 15	0,0 17	0,0 03		
AY339673.1 <i>G.</i> <i>patens</i>	0,0 09	0,0 16	0,0 16	0,0 16	0,0 11	0,0 12	0,0 15	
AY33975.1 <i>G.tal</i> <i>angensis</i>	0,0 11	0,0 19	0,0 19	0,0 19	0,0 22	0,0 08	0,0 11	0,0 20

Tabel 4.3 Lanjutan

AY339732.1 <i>G. acehensis</i>	0,0 11	0,0 19	0,0 19	0,0 19	0,0 22	0,0 08	0,0 11	0,0 20	0,0 00								
AY339734.1 <i>G. fecunda</i>	0,0 11	0,0 19	0,0 19	0,0 19	0,0 16	0,0 08	0,0 11	0,0 14	0,0 00	0,0 00							
KJ872143.1 <i>G. schomburgkii</i>	0,0 15	0,0 00	0,0 00	0,0 00	0,0 08	0,0 12	0,0 15	0,0 17	0,0 20	0,0 20	0,0 20						
AY339694.1 <i>G. racemosa</i>	0,0 13	0,0 21	0,0 21	0,0 21	0,0 18	0,0 10	0,0 13	0,0 16	0,0 02	0,0 02	0,0 02	0,0 22					
AB049302.1 <i>G. wintii</i>	0,0 12	0,0 09	0,0 09	0,0 09	0,0 00	0,0 09	0,0 12	0,0 12	0,0 18	0,0 18	0,0 18	0,0 09	0,0 18				
AB049317.1 <i>G. patens var patens</i>	0,0 11	0,0 18	0,0 18	0,0 18	0,0 12	0,0 07	0,0 11	0,0 00	0,0 16	0,0 16	0,0 16	0,0 18	0,0 16	0,0 12			
AB049310.1 <i>G. cernua</i>	0,0 07	0,0 16	0,0 16	0,0 16	0,0 12	0,0 04	0,0 07	0,0 11	0,0 12	0,0 12	0,0 12	0,0 16	0,0 12	0,0 12	0,0 11		
EU909407.1 <i>Alpinia japonica</i>	0,0 86	0,0 86	0,0 86	0,0 87	0,0 88	0,0 93	0,0 97	0,0 84	0,1 02	0,1 02	0,0 94	0,0 94	0,0 97	0,0 02	0,1 98	0,0 98	0,0 98

Tabel 4.3 Lanjutan

Sampel <i>Globba</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
sp.	14	02	00	00	08	19	22	16	26	26	19	00	21	09	18	16	07

B. Pembahasan Hasil Penelitian

Globba sp. dengan nomor koleksi XI.B.V.226 memiliki karakter morfologi berupa habitus herba yang dapat tumbuh mencapai 1 m. Bangun daun memanjang lanset dengan ujung daun meruncing dan pangkal daun tumpul, permukaan abaksial merambut dan licin, duduk daun bersilang, memiliki ornamen bunga berupa *bulbil*, mahkota bunga berbentuk tabung dengan bibir bunga berwarna kuning oranye, kepala putik berbentuk kupu-kupu, kelopak berwarna kuning kehijauan, aroma daun seperti kunyit dan rimpangnya berwarna keputihan.

DNA *Globba* sp. yang diisolasi menggunakan *Plant Genomic DNA* kit (Tiangen) berhasil terisolasi dengan baik seperti yang tersaji pada Gambar 4.2. Isolasi DNA secara umum memiliki dua prinsip yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Gaya sentrifugasi dan perbedaan berat molekul menjadi prinsip kerja dari sentrifugasi. Sementara itu pengendapan DNA agar terpisah dengan komponen sel lain menjadi prinsip kerja dari presipitasi. Tahapan isolasi DNA secara umum yaitu sentrifugasi, inkubasi, presipitasi, elusi, pencucian, dan pengeringan (Wahyuni, 2011). Hasil pemurnian DNA oleh kit Tiangen lebih berkualitas tinggi sehingga berfungsi dengan

baik dalam membantu pemisahan untai DNA oleh enzim restriksi, analisis PCR, sekuensing, dan keperluan *genbank* (Universal DNA purification kit handbook, 2021).

Hasil amplifikasi PCR dari sampel *Globba* sp. menggunakan primer ITS suhu 58°C dengan jumlah siklus 35 berhasil memvisualisasi sampel dengan panjang amplicon ± 807 bp dengan bentuk pita terdapat sedikit *smear* seperti yang tersaji pada Gambar 4.2. Berbeda dengan hasil elektroforesis produk PCR, amplicon sebelum sekuensing memperlihatkan hasil pita yang jauh lebih tipis (Gambar 4.3). Menurut Fatchiyah (2009) bentuk amplicon yang bergelombang (*smear*) dapat disebabkan oleh penggunaan *taq polymerase*, primer dan DNA sampel yang berlebihan atau adanya kontaminan pada DNA *template* yang menyebabkan aktivitas enzim *polymerase* menjadi terhambat. Sementara itu kualitas DNA hasil isolasi, variasi suhu, dan waktu *annealing* juga saling berkorelasi dengan tebal tipisnya pita DNA yang terbentuk.

Analisis DNA *barcoding* *Globba* sp. dengan pencarian similaritas sekuen (BLAST) menampilkan 100 spesies yang memiliki kemiripan urutan nukleotida. Beberapa sekuen bahkan menampilkan genus yang berbeda. Dari data tersebut 16 spesies dan satu *outgroup* memiliki nilai *percent identity*

dan *e-value* tertinggi seperti yang tersaji pada Lampiran 2. Nilai *percent identity* yang bisa digunakan minimal sebesar 86%. Sekuen hasil BLAST tersebut diantaranya juga merupakan *Globba* Sumatra yaitu *G. patens*, *G. schomburgkii*, *G. cernua*, *G. variabilis* dan 3 spesies *Globba* baru *G. talangensis*, *G. fecunda*, dan *G. acehensis* (Takano dan Okada, 2000).

Hasil filogram menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) menampilkan pohon evolusi yang tidak terpengaruh oleh variasi perubahan panjang cabang sehingga panjang cabang tidak diperhitungkan (Gambar 4.4). Metode UPGMA juga merekonstruksikan pohon dengan mengibaratkan rata-rata perubahan sepanjang pohon adalah konstan sehingga metode ini bisa digunakan untuk determinasi (Dharmayanti, 2011). Metode ini dianggap kurang akurat karena kecepatan evolusi pada tiap spesies dianggap sama untuk semua garis keturunan. Laju mutasi pada metode ini seringkali dianggap konstan. Hasil filogram UPGMA (Gambar 4.4) juga menghasilkan 2 kelompok cabang dengan *outgroup* yang tampak jelas terpisah. Data tersebut juga menunjukkan bahwa sampel *Globba* sp. memiliki kemiripan nukleotida dengan *G. schomburgkii*, *G. marantina*, *G. sessiliflora* dan dengan nilai *bootstrap* 99%. Namun sampel *Globba* sp.

lebih merujuk pada spesies *G. schomburgkii* karena berada pada satu cabang yang sama.

Filogram metode *Neighbor Joining* (NJ) akan menentukan sekuen yang apabila digabungkan akan memberikan perkiraan terbaik dari panjang cabang yang paling dekat sehingga menggambarkan jarak yang nyata diantara sekuen (Dharmayanti, 2011). Panjang cabang dalam metode ini akan berpengaruh pada posisi sekuen. Menurut (Pearson, 1899) *Neighbor Joining* merupakan metode yang merekonstruksi pohon kekerabatan dengan memperhitungkan jarak evolusi yang direpresentasikan dengan panjang cabang yang terbentuk. Metode ini mempertimbangkan variasi laju evolusi saat rekonstruksi pohon filogenetik. Tampilan pohon *Neighbor Joining* menghasilkan pohon yang optimal dimana semua posisi ambigu telah dihapus untuk setiap pasangan urutan (opsi penghapusan berpasangan) (Kimura, 1980).

Filogram dengan metode *Neighbor Joining* seperti yang tersaji pada Gambar 4.5 menghasilkan cabang yang lebih terstruktur. Namun dari metode ini juga tetap mengelompokan *Globba* sp. dengan *Globba schomburgkii*. Nilai bootstrap keduanya sebesar 97% yang mana nilai tersebut cukup kuat untuk membuktikan bahwa sampel *Globba* sp. merupakan

Globba schomburgkii. Sama halnya dengan filogram UPGMA, filogram *Neighbor joining* juga mengelompokkan *Globba* sp. dengan *Globba schomburgkii*. Sehingga dari kedua metode yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa *Globba* sp. memiliki persamaan sekuen nukleotida dengan *G. schomburgkii*. Pola pengelompokan sekuen ITS yang ditampilkan filogram juga sesuai dengan hasil BLAST. *G. schomburgkii* dan *G. sessiliflora* memiliki *percent identity* 100 % yang menunjukkan keduanya merupakan kandidat rujukan dari sampel *Globba* sp. Namun dalam filogram tidak menunjukkan adanya pengelompokan dengan spesies antara sampel *Globba* sp. dengan *Globba* Sumatra lain seperti *G. patens*, *G. cernua*, *G. variabilis* dan 3 spesies *Globba* baru *G. talangensis*, *G. fecunda*, dan *G. acehensis*.

Hasil jarak genetik (*genetic distance*) menggunakan *pairwise distance* yang hasilnya ditampilkan pada matrik (Tabel 4.3). 18 sekuen *Globba* menunjukkan nilai jarak genetik yang bervariasi. Nilai jarak genetik 0,000 dimiliki oleh *Globba sessiflora*, *G. schomburgkii* (KX065413.1), *G. fecunda*, *G. acehensis*, *G. wintii* (AB049302.1), *G. patens var patens* dan sampel *Globba* sp. yang berarti dalam 100 urutan basa nukleotida tidak terdapat basa nukleotida yang berbeda

(Nurkholidah, 2019). Semakin rendah jarak genetik maka semakin dekat hubungan kekerabatan antar spesies. Data tersebut menunjukkan bahwa sampel *Globba* sp. memiliki hubungan kekerabatan dengan *Globba* Sumatra seperti *G. patens*, *G. fecunda* dan *G. acehensis* yang mana hal tersebut tidak digambarkan dalam filogram. Sementara itu nilai jarak genetik terendah dimiliki oleh *Globba variabilis* dengan nilai jarak genetik 0,003 sedangkan nilai tertinggi dimiliki oleh sekuen *Alpinia japonica* dengan nilai jarak genetik (0,102) yang jelas menunjukkan *outgroup*.

Hasil rata-rata persentase komposisi nukleotida yang tersaji pada Lampiran tabel 1 terdiri atas 24,6% nukleotida T; 22,8% nukleotida C; 20,3% nukleotida A; 32,4% nukleotida G. Perbedaan komposisi nukleotida pada masing-masing sekuen menunjukkan adanya variasi genetik antar spesies. Rata-rata panjang sekuen yang hasil BLAST dan alignment seperti yang tercantum pada Lampiran tabel 2 juga menunjukkan bahwa sekuen terpanjang yang hampir sama dengan *Globba* sp. yaitu *outgroup* (*Alpinia japonica*) dengan panjang sekuen 800 bp sedangkan sekuen terpendek 569 bp dimiliki oleh *Globba wintii*.

Hasil pengelompokan sekuen menggunakan *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) seperti yang tercantum pada Tabel 4.2 berhasil mengidentifikasi celah *barcode (gap)* dan membagi sekuen menjadi kelompok spesies yang sama. Metode ABGD akan mengelompokkan spesies berdasarkan persamaan celah *barcode (gap)* yang dideteksi berdasarkan jarak intraspesifik dan interspesifik (Puilandre *et al.*, 2012). Analisis DNA *barcoding* menggunakan *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) akan mengkonfirmasi letak celah (*gap*) pada sekuen berdasarkan jarak intraspesifik dan interspesifik sehingga ABGD disebut juga dengan analisis delimitasi spesies. Nilai Pmax 0,03 atau 3% pada saat input sekuen menunjukkan nilai *threshold* yang bisa digunakan untuk menunjukkan spesies yang sama. Adapun hasil ABGD menggunakan model kimura 2-parameter juga menghasilkan kelompok (*cluster*) yang sama seperti filogram. *Globba* sp. mengelompok dengan *G. schomburgkii*, *G. sessiliflora*, dan *G. marantina* (*group 2*).

Data distribusi dan morfologi *Globba* juga turut memperkuat hasil analisis *DNA barcoding*. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa *Globba* sp. merupakan salah satu dari ketiga spesies *G. schomburgkii*, *G. marantina*, dan *G. sessiliflora*. *Globba marantina* tumbuh dan terdistribusi di wilayah

Kalimantan, kamboja, China bagian selatan hingga Tengah, Himalaya Timur, India, Jawa, Laos, Maluku, Myanmar, Nepal, New Guinea, Filipina, Sri Lanka, Sulawesi, Sumatera, Thailand, dan Vietnam. Sementara itu *G. schomburgkii* endemik dari Thailand namun dapat ditemui di wilayah Asia Tenggara seperti Kamboja, China bagian Selatan hingga Tengah, India, Laos, Myanmar, Thailand, dan Vietnam. Sedangkan *G. sessiliflora* terdistribusi dari India, Myanmar, Thailand. (Royal Botanic Gardens Kew, 2021). Perbandingan morfologi juga dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil filogram, analisis jarak genetik dan ABGD. Adapun data morfologi *Globba* tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Perbandingan morfologi *G. marantina*, *G. sessiliflora* dan *G. schomburgkii*

Karakter	<i>G. schomburgkii</i>	<i>G. marantina</i>	<i>G. sessiliflora</i>	<i>Globba sp.</i>
Habitus	Herba	Herba	Herba	Herba
Bentuk daun	Menjorong lanset	Lonjong lanset	Lonjong lanset seperti daun bambu	Memanjang

Tabel 4.4 Lanjutan

Karakter	<i>G. schomburgkii</i>	<i>G. marantina</i>	<i>G. sessiliflora</i>	<i>Globba sp.</i>
Ujung daun	Lancip/ meruncing berekor	Meruncing	Meruncing	Meruncing
Pangkal daun	Tumpul	Tumpul	Membundar tumpul	Tumpul
Permukaan atas daun	Halus	Bergelom- ng dengan permukaan berbulu	Berbulu pendek rapat dan halus di bagian adaksial	Halus
Tipe perbungaan	Tandan	Tandan berduri dengan bunga di ujung batang	Tegak majemuk tak terbatas dengan bunga pendek berjumlah banyak	Tandan dengan tipe bunga majemuk tak terbatas, letak bunga di ujung batang
Warna mahkota bunga	Kuning oranye	Kuning pucat	Kuning terang	Kuning oranye

Tabel 4.4 Lanjutan

Karakter	<i>G. schomburgkii</i>	<i>G. marantina</i>	<i>G. sessiliflora</i>	<i>Globba</i> sp.
Jumlah pelengkap kepala anter (<i>anther appendages</i>)	4 berbentuk seperti kupu-kupu (Munawaroh, 2020)	4 berbentuk seperti kupu-kupu (Soe <i>et al.</i> , 2019)	Tidak ada (Soe <i>et al.</i> , 2019)	4 berbentuk seperti kupu-kupu

Data yang tercantum dalam Tabel 4.4 menunjukkan bahwa *Globba schomburgkii* memiliki karakter dapat tumbuh mencapai 30-50 cm. Daun berjumlah 5 atau 6, bentuk tangkai daun pendek, helaian daun berbentuk menjorong-melanset dengan, tekstur daun halus, pangkal daun datar, ujung daun lancip-berekor. Tipe perbungaan berupa tandan dengan ukuran 3 - 11 cm, Warna bunganya kuning dan merah. Kelopak bunga berbentuk lonceng, bibir bunga berwarna kuning oranye yang terlihat di dasar, tangkai sari melengkung (Munawaroh, 2020). *G. schomburgkii* memiliki trikoma di bagian abaksial daun. Sementara itu *G. marantina* memiliki karakter dapat tumbuh mencapai 90 cm, memiliki 4 pelengkap kepala anter (*anther appendages*) pada bagian bunganya, mempunyai bulbil herba tegak atau miring, permukaan

potongan melintang dari akar segar menunjukkan bagian dalam berwarna krem dengan bagian tengah lunak berdaging putih keperakan yang membentuk bagian terbesar dari akar. Akar memiliki bau aromatik yang kuat dengan rasa pedas, daun berselang-seling tersusun spiral, sederhana, tidak bertangkai yang diikat oleh pangkal pelepah. Daunnya berbentuk lonjong hingga lanset, tepi daun sedikit bergelombang dengan ujung runcing. Daun bervariasi dalam ukuran dan panjang 15-18 cm dan lebar 3-5 cm. Permukaan atas daun berwarna hijau lebih gelap dibandingkan dengan permukaan bawah dan memiliki trikoma di bagian adaksial daun (Roy *et al.*, 2016). *G. sessiliflora* dapat tumbuh mencapai 30-40 cm, rimpang silindris dengan warna kuning pucat, terdapat *ligula*, bunga tumbuh pada ujung (terminal) pucuk daun, tangkai daun berwarna hijau, bunga berwarna kuning cerah, *fillamen* (tangkai sari) melengkung, kepala sari tidak memiliki pelengkap seperti sayap (*anther appendages*) buahnya lonjong, hijau dan licin, memiliki trikoma dibagian abaksial daun (Soe *et al.*, 2019). Adapun perbandingan morfologi spesimen herbarium dari *G. schomburgkii*, *G. sessiliflora* dan *G. marantina* dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Herbarium *Globba schomburgkii* (a), *G. sessiliflora* (b), *G. marantina* (c)
(Wunderlin *et al.*, 2022; Gbif, 2017)

Herbarium *G. schomburgkii* sangat representatif untuk menggambarkan spesies *Globba* sp. sedangkan *G. sessiliflora*

dan *G. marantina* sangat jelas perbedaan morfologinya. Bukti herbarium *G. schomburgkii* pada Gambar 4.6 koleksi atlas Florida *Institute of Systematic Botany* pada 8 Juli 1978 juga menunjukkan adanya habitus yang identik dengan *Globba* sp. koleksi Kebun Raya Bogor. Data analisis *DNA barcoding*, perbandingan morfologi, distribusi *Globba*, dan perbandingan spesimen herbarium membuktikan bahwa *Globba* sp. asal Sumatra Utara koleksi Kebun Raya Bogor dengan nomor koleksi XI.B.V.226 merupakan *Globba schomburgkii*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa teknik *DNA barcoding* menggunakan sekuen *region Internal Transcribe Spacer* (ITS) berhasil mendeterminasi spesies.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. *Globba* sp. dengan nomor koleksi XI.B.V.226 memiliki ciri karakter morfologi berupa habitus herba yang dapat tumbuh mencapai 1 m, bangun daun memanjang lanset dengan ujung daun meruncing dan pangkal daun tumpul, permukaan abaksial merambut dan licin, duduk daun bersilang, memiliki ornamen bunga berupa *bulbil*, mahkota bunga berbentuk tabung dengan bibir bunga berwarna kuning oranye, kepala putik berbentuk kupu-kupu, kelopak berwarna kuning kehijauan, aroma daun seperti kunyit dan rimpangnya berwarna keputihan.
2. Analisis metode *DNA barcoding* menggunakan *region* ITS terbukti dapat digunakan untuk mendeterminasi spesies *Globba* sp. asal Sumatra Utara dengan nomor koleksi XI.B.V.226.
3. Hasil analisis filogenetik menunjukkan adanya hubungan kekerabatan antara *Globba* sp., *G. sessiliflora* dan *G. marantina* namun analisis penelitian ini berhasil membuktikan bahwa *Globba* sp. lebih merujuk pada

spesies *G.schomburgkii* yang diketahui berdasarkan analisis *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD), nilai jarak genetik dan perbandingan morfologi sehingga dapat disimpulkan bahwa *Globba* sp. koleksi Kebun Raya Bogor dengan nomor XI.B.V.226 merupakan *Globba schomburgkii*.

B. Saran

Saran peneliti untuk pembaca dan keberlanjutan penelitian selanjutnya yaitu:

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian sebaiknya dalam kondisi kering sehingga memudahkan penggerusan sampel dan ekstraksi. Pengambilan sampel tanaman *Globba* juga sebaiknya melihat kondisi lapangan, usahakan *Globba* yang dijadikan sampel sedang dalam kondisi berbunga sehingga memungkinkan untuk dilakukan karakterisasi morfologi.
2. Penggunaan sekuen *region* lain (seperti *matK*, *rbcl*, *psbA-trnH*) juga perlu diuji cobakan untuk mengetahui perbandingan keefektifan *barcode* dalam kasus determinasi spesies pada *Globba*.

3. Melakukan konsultasi dengan peneliti/botanist yang memiliki keahlian di bidang Zingiberaceae untuk mengkonfirmasi jenis dan memperkuat hasil penelitian.
4. Sebaiknya menggunakan komputer dengan penyimpanan yang tidak terlalu penuh sehingga pada saat analisis bioinformatika menggunakan Mega X tidak eror dan tidak menghabiskan banyak waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariati, S.R., Astuti, R. S., I. Supriyatna, A. Y. Yuswandi, A. Setiawan, D. Saftaningsih, D. O. Pribadi. 2019. *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Bogor Botanic Garden*. Center for Plant Conservation Botanical Garden, Bogor.
- Aslam, M. S., & Ahmad, M. S. 2017. Ethno botanical uses of Globba species: a brief review. *BAOJ Pharm Sci*, 3, 035.
- Badan Pengembangan dan Pembinaan Bahasa - KBBI Daring (kemdikbud.go.id) diakses pada 16/10/21 pukul 22:51 WIB .
- Bayton, R., Maughan, S. 2017. *Plant Families Guide for gardener and Botanists*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Besse, Pascale. 2021. *Molecular Plant Taxonomy methode and protocol 2 ed*. Humana Press: London.
- Buchheim, M. A., Keller, A., Koetschan, C., Förster, F., Merget, B., & Wolf, M. 2011. Internal transcribed spacer 2 (nu ITS2 rRNA) sequence-structure phylogenetics: towards an automated reconstruction of the green algal tree of life. *PLoS one*.6(2), e16931.
- Cao, L., Newman, M. F., Kirchoff, B. K., & Ronse de Craene, L. P. 2019. Developmental evidence helps resolve the evolutionary origins of anther appendages in Globba (Zingiberaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 189(1), 63-82.
- Chumroenphat, T., Somboonwatthanakul, I., Saensouk, S., Siriamornpun, S. 2021. *Changes in curcuminoids and chemical components of turmeric (Curcuma longa L.) under freeze-drying and low-temperature drying methods*. *Food Chemistry*, 339, 128121.
- DeSalle, R., & Goldstein, P. 2019. Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 7, 302.

- Dharmayanti, N.I. 2011. Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Warta zoa*. Vol 21 (1).
- Fathiyah. 2009. *Biologi molekuler prinsip dasar analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Gao,T., Yao, H., Song, J. 2010. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2. *J. of Ethnopharmacology*.130, 116–121.
- Giudicelli, G. C., Mäder, G., & Brandão de Freitas, L. 2015. Efficiency of ITS sequences for DNA barcoding in Passiflora (Passifloraceae). *International journal of molecular sciences*, 16(4), 7289-7303.
- Global Biodiversity Information Facility (Gbif). 2017. Occurrence 574646076 (gbif.org) diakses pada 22 januari 2022 pukul 23:53.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Kowalska, Z., Pniewski, F., & Latała, A. 2019. DNA barcoding–A new device in phycologist's toolbox. *Ecohydrology and Hydrobiology*, 19(3), 417-427.
- Kress, W. J., Prince, L.M., & Williams, K.J. 2005. The Phylogeny And a Classification of the Gingers (Zingiberaceae): Evidence from Molecular Data. *American Journal of Botany*. Vol 89 (10): 1682-1696.
- Leong, Š.J., Tran, H. D., Nguyen, Q. B., Kristyna, H., Nguyen, Q. D., Nguyen, T. T., & Mark, N. 2019. The identity of Amomum trilobum and Amomum unifolium (Zingiberaceae: Alpinioideae), and description of four new related species from Vietnam. *Phytotaxa*. 401(3), 149-165.
- Letchuman, S. 2018. Short Introduction of DNA Barcoding. *International Journal of Research*. 05(04), 673-686.

- Li, D.Z., Gao, L.M., Li, H. T., Wang, H., Ge, X.J. 2011. *Comparative analysis of a large data set indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 108, 19641–19646.
- Lianah. 2020. *Biodiversitas Zingiberaceae di Mijen Semarang*. Yogyakarta: Deepublish CV Budi Utama.
- Lima, R. A., Oliveira, A. A. D., Colletta, G. D., Flores, T. B., Coelho, R. L. G., Dias, P., Chave, J. 2018. Can plant DNA barkodingbarcoding be implemented in species-rich tropical regions A perspective from São Paulo State, Brazil. *Genetics and molecular biology*. 41, 661-670.
- Lutfia, A., & Munir, E. 2019. *Antagonistic Endophytic Fungi of Globba pendula Roxb. from Taman Hutan Raya, North Sumatra against Staphylococcus aureus ATCC® 29213TM*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.Vol. 305 (1). IOP Publishing.
- Martiansyah, Irfan. 2021. *Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA BarkodingBarcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik Syzygium (Myrtaceae)*. Prosiding Seminar Nasional Biologi UIN Alauddin Makassar. Vol 7 (1): 187-195.
- Munawaroh, E. 2020. *Conservation Efforts Ex-Situ Family Zingiberaceae from Bukit Barisan Selatan National Park, in Liwa Botanical Garden, West Lampung, Lampung*. Proceedings of SNPBS (National Seminar on Biological and Biological Education) 5th.
- Nurainas, N., & Arbain, D. 2017. A new species and a new record of Zingiberaceae from Sumatra, Indonesia. *Taiwania*, 62(3), 294-298.
- Nurkholidah. 2019. *Karakterisasi Morfologi dan Barkoding DNA Globba atosanguinea Teijsm. & Binn. (Zingiberaceae)*

- Aksesi Kalimantan*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Olander, S.B. 2020. *Globba aurantiaca*. The IUCN Red List of Threatened Spesies 2020: e.T117348915A124282642.<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20202RTLS.T117348915A12482642.en>
- Pearson, W. R., & Robin, Zhang. 1999. Generalized Neighbor Joining: more reliable phylogenetic tree reconstruction. *Molecular Biology Evolution*. Vol 16 (6): 806-816.
- Plant of the Word Online (POWO). 2019. *Globba marantina* L. | [Plants of the World Online | Kew Science](#) diakses pada 29 desember 2021 pukul 23:50
- Plant of the Word Online(POWO). 2019. *Globba sessiliflora* Sims | [Plants of the World Online | Kew Science](#) diakses pada 29 desember 2021 pukul 23:57
- Plants of the World Online (POWO). 2019. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. *Globba* L. | [Plants of the World Online | Kew Science](#) diakses pada 07 Januari 2022
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., Achaz, G. J. M. E. 2012. Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular ecology*, 21(8), 1864-1877.
- Purty, R. S., & Chatterjee, S. 2016. DNA barcoding: an effective technique in molecular taxonomy. *Austin J Biotechnol Bioeng*, 3(1), 1059.
- Rahayu, Dwi. A. dan Jannah, M. 2019. *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia*. Jakarta : Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.
- Roy, S., Acharya, R. N., Harisha, C. R., & Shukla, V. J. 2016. Macro, microscopic and preliminary analytical evaluation of root and leaf of *Globba marantina* Linn.-an extrapharmacopoeial drug of Ayurveda. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(4), 469-478.

- Royal Botanic Gardens Kew. 2021 *Globba schomburgkii* Hook.f. | [Plants of the World Online](#) | [Kew Science](#)
- Sangvirotjanapat, S., D ang, T. H., & Newman, M. 2020. Ten new species of *Globba* section *Globba* from continental South-East Asia. *Thai Forest Bulletin (Botany)*. 48(2), 212-233.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S. S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A. 2012. *Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109 (16), 6241–6246.
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati. Hal 317-318.
- Soe, N., Ohnmar, S., Han, S., Mar, A. A., & Thu, Y. Y. *Comparative Studies Of Different Globba Species In Bago Yoma And Rakhine State*. 2nd Myanmar Korea Conference Research Journal.
- Syamsuardi, M. Nurainas, Susanti, T. 2010. Variasi Morfologi Polen Genus *Globba* (Zingiberaceae) Di Sumatera Barat. *Berkala Penelitian Hayati*. 16 (1):89-94.
- Takano, A., & Okada, H. 2015 Taxonomy of *Globba* (Zingiberaceae) in Sumatra, Indonesia. *Systematic Botany*. 28 (3),524–46.
- Utami, Sri., Haneda, N. F. 2010. Pemanfaatan Etnobotani dari Hutan Tropis Bengkulu sebagai Pestisida Nabati. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*. 16(3), 143-147.
- Vinitha, M. R., Kumar, U. S., Aishwarya, K., Sabu, M., & Thomas, G. 2014. Prospects for discriminating Zingiberaceae species in India using DNA barcodes. *Journal of integrative plant biology*. Vol 56(8), 760-773.
- Wasikhah, 2016. *Tumbuhan Zingiberaceae sebagai obat-obatan*. *Serambi Saintia: Jurnal Sains dan Aplikasi*. 4 (1): 35-43.

- Wunderlin, R. P., B. F. Hansen, A. R. Franck, and F. B. Essig. 2022. Atlas of Florida Plants (<http://florida.plantatlas.usf.edu/>). S. M. Landry and K. N. Campbell (application development), USF Water Institute. Institute for Systematic Botany, University of South Florida, Tampa.
- Zahara, M. 2020. *Identification of morphological and stomatal characteristics of Zingiberaceae as medicinal plants in Banda Aceh, Indonesia*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Vol. 425 (1). IOP Publishing.
- Zhang, D., Duan, L., Zhou, N. 2013. Application of DNA Barcoding in Roscoea (Zingiberaceae) and a Primary Discussion on Taxonomic Status of Roscoea Cautleoides var. Pubescens. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol 52: 14-19.

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel lampiran 1. sekuen *Globba* berdasarkan komposisi nukleotida

Nama spesies	Komposisi nukleotida (%)				Total
	T/U	C	A	G	
AF414500.1 <i>G. variabilis</i>	23.5	22.4	21.3	32.8	705
KX065412.1 <i>G. marantina</i>	24.4	23.3	20.5	31.9	665
KX065415.1 <i>G. sessiliflora</i>	24.5	23.3	20.1	32.1	657
KX065413.1 <i>G. schomburgkii</i>	24.4	23.2	20.2	32.2	655
AY339676.1 <i>G. wintii</i>	24.8	22.6	20.2	32.4	654
AY339671.1 <i>G. cernua</i>	24.9	22.3	20.3	32.5	655
AY339683.1 <i>G. variabilis</i>	24.7	22.3	20.3	32.7	655
AY339673.1 <i>G. patens</i>	25.0	22.4	20.2	32.4	655
AY339735.1 <i>G. talangensis</i>	24.9	22.3	20.5	32.4	655
AY339732.1 <i>G. acehensis</i>	24.8	22.4	20.4	32.3	656
AY339734.1 <i>G. fecunda</i>	24.7	22.2	20.5	32.6	648
KJ872143.1 <i>G. schomburgkii</i>	24.7	23.0	19.5	32.8	604
AY339694.1 <i>G. racemosa</i>	24.7	23.1	19.8	32.3	640
AB049302.1 <i>G. wintii</i>	25.1	23.0	19.2	32.7	569

AB049317.1 <i>G. patens</i> var <i>patens</i>	25.4	22.8	19.1	32.6	570
AB049310.1 <i>G. cernua</i>	25.3	22.6	19.3	32.8	570
EU909427.1 <i>Alpinia japonica</i>	23.2	24.1	21.0	31.7	742
<i>Globba</i> sp.	23.9	22.3	21.3	32.5	804
Rata-rata	24.6	22.8	20.3	32.4	653.4

Tabel lampiran 2. Tabel sekuen *Globba region* ITS hasil BLAST NCBI yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik

No	Nama spesies	Percent identity	E-value	Accession Number	Panjang sekuen
1.	<i>Globba schomburgkii</i>	100%	0.0	KX065413.1	657 bp
2.	<i>Globba schomburgkii</i>	100%	0.0	KJ872143.1	604 bp
3.	<i>Globba sessiliflora</i>	100%	0.0	KX065415.1	659 bp
4.	<i>Globba wintii</i>	99%.08%	0.0	AY339676.1	654 bp
5.	<i>Globba wintii</i>	98.95	0.0	AB049302.1	569 bp
6.	<i>Globba marantina</i>	99%.85%	0.0	KX065412.1	666 bp

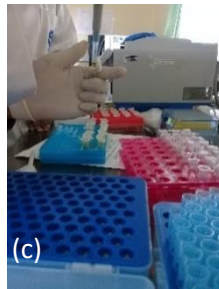
7.	<i>Globba cernua</i>	98.63%	0.0	AY339671.1	655 bp
8.	<i>Globba variabilis</i>	98.32%	0.0	AY339683.1	655 bp
9.	<i>Globba patens</i>	98.32%	0.0	AY339673.1	655 bp

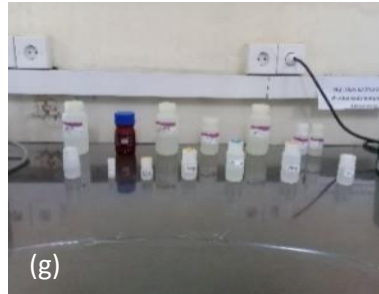
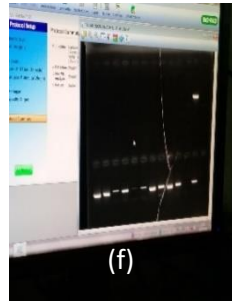
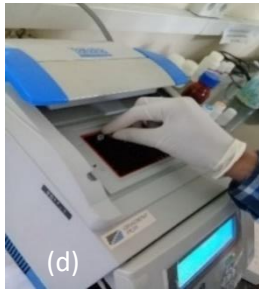
Tabel 4.4 Lanjutan

No	Nama spesies	Percent identity	E-Value	Acession number	Panjang sekuen
10.	<i>Globba variabilis</i>	98.30%	0.0	AF414500.1	705 bp
11.	<i>Globba patens var. patens</i>	98.07%	0.0	AB049317.1	570 bp
12.	<i>Globba cernua</i>	98.07%	0.0	AB049310.1	570 bp
13.	<i>Globba talangensis</i>	97.87	0.0	AY339735.1	655 bp
14.	<i>Globba fecunda</i>	97.85%	0.0	AY339734.1	649 bp
15.	<i>Globba acehensis</i>	97.72	0.0	AY339732.1	656 bp
16.	<i>Globba racemosa</i>	95.14%	0.0	AY339694.1	656 bp

17. <i>Alpinia japonica</i>	90.33%	0.0	EU909427.1	800 bp
-----------------------------	--------	-----	------------	--------

Gambar lampiran 1. Dokumentasi penelitian





Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian (a) Pengambilan sampel, (b) Penggerusan sampel, (c) ekstraksi, (d) amplifikasi/ PCR, (e) elektroforesis, (f) visualisasi pita DNA (g) kit Tiangen.

Gambar lampiran 2. Kromatogram *forward* dan *reverse* hasil sekuensing *Globba* sp.



Lampiran 1. Sekuen *forward* dan *reverse* *Globba* sp.

>4130068_Gsp_ITS_F

GGGGNNGGGGTGGTTCGCCACTCGCGACGTCTTGAGAAGTTCATTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGT
AACAAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTTGAGAGAGCATAGAATGACGGATGGTTGTGAATGTGT
GAACGTGCCCTTTCCCTGCCCATGTTGGTGGGTGATTGATCGTAGCTCGGTGCGATCTGCACCAAGGAAAAACG
AATTCGGAAGCAGAGGGCCCTTTGGCGTCTGCGGGGGTGCCCAATGCGTCGAGATTCCCTCGGAATCAAATGACT
CTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGTCAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATC
TCGTGAACCATTGAGTCTTTGAACGCAAGTTGTGCCCGAGGCTTTGTGGCCGAGGGCACGCCTGCTTGGGCGTCATG
GCATCGTCGCTTTTGTCCATGCTTTGCTGGTGCCTAGCGCGGAAATTGGCCCCGTGTGCCCTCGGGCGCAGTCGGT
TGAAGAGTGGGTAGTCAGCAGTCGGGCGCGATGGTTGTTGGTTCGTCGCGAACGGGATTGCAACGTCGTCCCCGTCGT
GTTGGGATGAGTCCTCAAGAGACCTGTGTGATTTGCAGCGTCGGGTGAAAGCGCCATGTCCATCAAATCGTGGCCC
CAAGTCAGGCGAGGCCACCCGCCGAGTTTAAGCATATAAATAAGCGGAGGAGGAGAACTTACAAGGATTCCCCTAG
TAACGGCGAGCGAACGGGGGAAATTCTAAA

>4140069_Gsp_ITS_R

AACNNNNNTTTTACGAATTTCCATGTCCGGTGGAGTGTTCGGATCGGGGGTAGGGGGTGGTTCGCCACTCGCGACGT
CTTGAGAAGTTCATTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGTTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAA
GGATCATTGTTGAGAGAGCATAGAATGACGGATGGTTGTGAATGTGTGAACGTGCCCTTTCCCTTGCCCCATGTTGG
TGGGTGATTGATCGTAGCTCGGTGCGATCTGCACCAAGGAAAAACGAATTCGGAAGCAGAGGGCCCCCTTTGGCGTC
TGCGGGGGGTGCCCAATGCGTCGGAGATTCCCTCGGAATCAAATGACTCTCGGCAATGGATAATCTCGGCTCTTGATC
GATGAAGAACGTAGTGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCTCGTGAACCATTGAGTCTTTGAACGCAAGT
TGTGCCCAGGCTTTGTGGCCGAGGGCACGCCTGCTTGGGCGTCATGGCATCGTCGCTTTTGCTCCATGCTTTGCTG
GTGCTTAGCGCGGAAATTTGGCCCCGTGTGCCCTCGGGCGCAGTCGGTTGAAGAGTGGGTAGTCAGCAGTCGGGCGCG
ATGGTTGTTGGTTCGTCGGAACGGGATTCGAACGTCGTCCCCGTCGTGTTGGGATGAGTCCCAAGAGACCCGTGTGT
GATTTGCAGCGTCGGGTGAAAGCGCCATGTCCATCAAATCGTGGCCCCAAGTCAGGCAGGCCACCCGCCGAGTTTA
AGCATATAAATAAGCGGAGGAGGAGAACTTACAAGTTCCCAA

Lampiran 2. Konsensus sekuen (*contig*)

>Contig *Globba* sp.

CCATGTCCGGTGGAGTGTTCGGATCGGGGGTAGGGGGTGGTTCGCCACTCGCGACGTCTTGAGAAGTTCATTGAACC
TTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTTGAGAGAGCA
TAGAATGACGGATGGTTGTGAATGTGTGAACGTGCCCTTTCCCTTGCCCCATGTTGGTGGGTGATTGATCGTAGCTC
GGTTCGATCTGCACCAAGGAAAAACGAATTCGGAAGCAGAGGGCCCCCTTTGGCGTCTGCGGGGGGTGCCCAATGCG

TCGGAGATTCCCTCGGAATCAAATGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGTAAAT
 GCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCTCGTGAACCATTGAGTCTTTGAACGCAAGTTGTGCCCGAGGCTTTGTGGC
 CGAGGGCACGCCTGCTTGGGCGTCATGGCATCGTCGCTTTTGTCCATGCTTTGCTGGTGCCTAGCGCGGAAATTGG
 CCCCCTGTGCCCTCGGGCGCAGTCGGTTGAAGAGTGGGTAGTCAGCAGTCGGGCGCGATGGTTGTTGGTCGTCGCGA
 ACGGGATTGAAACGTCGTCCCCGTCGTGTTGGGATGAGTCCTCAAGAGACCCGTGTGTGATTTGCAGCGTCGGGTGAA
 AGCGCCATGTCCATCAAATCGTGGCCCCAAGTCAGGCGAGGCCACCCGCCGAGTTTAAGCATATAAATAAGCGGAGG
 AGGAGAACTTACAAGGATTCCCCTAGTAACGGCGAG

Lampiran 3. Multiple Sequence Alignment Globba

	5	15	25	35	45	55
AF414500.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KX065412.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KX065415.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KX065413.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AY339676.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AY339671.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AY339683.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AY339673.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----

```

AY339735.1  -----
AY339732.1  -----
AY339734.1  -----
KJ872143.1  -----
AY339694.1  -----
AB049302.1  -----
AB049317.1  -----
AB049310.1  -----
EU909427.1  ---GTCCGGT GAAGTGTTTC GATCGGGGKG ACGGGGGTGG TTCGCCACTC GCGACGTCTT
Sampel      CCATGTCCGG TGGAGTGTTTC GGATCGGGGG TAGGGGGTGG TTCGCCACTC GCGACGTCTT

          .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
          65          75          85          95          105          115
AF414500.1  -----G GAAGGAGAAG TCGTAACAAG
          GTTTCCGTAG
KX065412.1  ----- TCGTAACAAG
          GTTTCCGTAG
KX065415.1  ----- TCGTAACAAG
          GTTTCCGTAG
KX065413.1  ----- --GTAACAAG
          GTTTCCGTAG

```

AY339676.1	-----	----CCTTA	TCATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339671.1	-----	----CCTTAT	C-ATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339683.1	-----	----CCTTAT	C-ATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339673.1	-----	----CCTTA	TCATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339735.1	-----	----CCTTAT	C-ATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339732.1	-----	----CCTTAT	CCATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
AY339734.1	-----	-----	-CATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	
	GTTTCCGTAG					
KJ872143.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
-						
AY339694.1	-----	-----	-----	-----	-----	-
	TTTCCGTAG					
AB049302.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AB049317.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
AB049310.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
EU909427.1	GAGAAGTCCA	TTGAACCTTA	TCATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	GTTTCCGTAG

Sampel	GAGAAGTTCA	TTGAACCTTA	TCATTTAGAG	GAAGGAGAAG	TCGTAACAAG	GTTTCCGTAG

	125	135	145	155	165	175
AF414500.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
KX065412.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
KX065415.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
KX065413.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339676.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCACAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339671.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339683.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339673.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339735.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339732.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339734.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
KJ872143.1	-----TGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AY339694.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AB049302.1	-----	-----	---TTGAGAG	AGCACAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AB049317.1	-----	-----	---TTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
AB049310.1	-----	-----	---TTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG
EU909427.1	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATTGAAC	GACGGATGRT	TGTGAATGYG
Sampel	GTGAACCTGC	GGAAGGATCA	TTGTTGAGAG	AGCATAGAAT	GACGGATGGT	TGTGAATGTG

	185	195	205	215	225	235
AF414500.1	TGAACGTGGC	CCTTTCCTCG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
KX065412.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
KX065415.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
KX065413.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339676.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339671.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339683.1	TGAACGTGGC	CCTTTCCTCG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339673.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GCGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339735.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGAT	CGGTGCGATC
AY339732.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGAT	CGGTGCGATC
AY339734.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGAT	CGGTGCGATC
KJ872143.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AY339694.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGAT	CGGTGCGATC
AB049302.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AB049317.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GCGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
AB049310.1	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC
EU909427.1	TCAACGTGCC	CCTTTTGTG	CCCCATRTTG	GCAGCCGATT	GACCGTAGCT	CGGTGCGATC
Sampel	TGAACGTGCC	CCTTTCCTTG	CCCCATGTTG	GTGGGTGATT	GATCGTAGCT	CGGTGCGATC

	245	255	265	275	285	295
AF414500.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
KX065412.1	TGCACCAAGG	AAAAAACGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
KX065415.1	TGCACCAAGG	AAAAAACGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
KX065413.1	TGCACCAAGG	AAAAAACGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339676.1	TGCACCAAGG	AAAAA-CGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339671.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339683.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339673.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339735.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339732.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339734.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
KJ872143.1	TGCACCAAGG	AAAAAACGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AY339694.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AB049302.1	TGCACCAAGG	AAAAA-CGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AB049317.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
AB049310.1	TGCACCAAGG	AAAAA-TGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC
EU909427.1	TGCACCAAGG	AAYAA-TGAA	CTCAGAAGCA	GATGGCCC--	TCAGCG--TG	CGCGAGGAGG
Sampel	TGCACCAAGG	AAAAAACGAA	TTCGGAAGCA	GAGGGCCCCT	TTGGCGTCTG	CGGGGGGTGC

	305	315	325	335	345	355
AF414500.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
KX065412.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
KX065415.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
KX065413.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339676.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339671.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339683.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339673.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339735.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	AGGAATCATA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339732.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	AGGAATCATA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339734.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	AGGAATCATA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
KJ872143.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AY339694.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	AGGAATCATA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AB049302.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AB049317.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
AB049310.1	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
EU909427.1	CCAATGCATC	GGAGATGCCT	CA-AATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT
Sampel	CCAATGCGTC	GGAGATTCCT	CGGAATCAAA	TGACTCTCGG	CAATGGATAT	CTCGGCTCTT

.....
365	375	385	395	405	415

AF414500.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
KX065412.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
KX065415.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
KX065413.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339676.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339671.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339683.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339673.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339735.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339732.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339734.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
KJ872143.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AY339694.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AB049302.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AB049317.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
AB049310.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
EU909427.1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC
Sampe1	GCATCGATGA	AGAACGTAGT	GAAATGCGAT	ACTTGGTGTG	AATTGCAGAA	TCTCGTGAAC

	425	435	445	455	465	475
AF414500.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG

KX065412.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
KX065415.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
KX065413.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339676.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339671.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339683.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339673.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339735.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339732.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339734.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
KJ872143.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AY339694.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AB049302.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AB049317.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
AB049310.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
EU909427.1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCCTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG
Sampe1	CATTGAGTCT	TTGAACGCAA	GTTGTGCCCCG	AGGCTTTGTG	GCCGAGGGCA	CGCCTGCTTG

	485	495	505	515	525	535
AF414500.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
KX065412.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC

KX065415.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
KX065413.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339676.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339671.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339683.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339673.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGTGC	GGAAATTGGC
AY339735.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339732.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339734.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
KJ872143.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AY339694.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AB049302.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
AB049317.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGTGC	GGAAATTGGC
AB049310.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC
EU909427.1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCC	TTTGCTACTT	GCTTTGTCCG	TGCCAAGCGC	GGAAATTGGC
Sample1	GGCGTCATGG	CATCGTCGCT	TTTGCTCCAT	GCTTTGCTGG	TGCCTAGCGC	GGAAATTGGC

	545	555	565	575	585	595
AF414500.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
KX065412.1	CCCGTGTGCC	CTCGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCGCGA
KX065415.1	CCCGTGTGCC	CTCGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCGCGA

KX065413.1	CCCGTGTGCC	CTCGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCGCGA
AY339676.1	CCCGTGTGCC	CTTGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339671.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339683.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339673.1	CCCGTGTGCC	CTTGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339735.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339732.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AY339734.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
KJ872143.1	CCCGTGTGCC	CTCGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCGCGA
AY339694.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AB049302.1	CCCGTGTGCC	CTTGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AB049317.1	CCCGTGTGCC	CTTGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
AB049310.1	CCCGTGTGCC	CTAGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCACGA
EU909427.1	CTCGTGTGCC	CTCGGGCACA	GTCGGCTGAA	GAGTGGGTAA	TCCGCAGTCG	TCGGGCGCGA
Sampe1	CCCGTGTGCC	CTCGGGCGCA	GTCGGTTGAA	GAGTGGGTAG	TCAGCAGTCG	---GGCGCGA

	605	615	625	635	645	655
AF414500.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
KX065412.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAA	CGGGATTCGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
KX065415.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAA	CGGGATTCGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
KX065413.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAA	CGGGATTCGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC

AY339676.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AY339671.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AY339683.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AY339673.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AY339735.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGCCGTCCC	CGTCGTGTTT	GGATGAGTCC
AY339732.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGCCGTCCC	CGTCGTGTTT	GGATGAGTCC
AY339734.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGCCGTCCC	CGTCGTGTTT	GGATGAGTCC
KJ872143.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAA	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AY339694.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGCCGTCCC	CGTCGTGTTT	GGATGAGTCC
AB049302.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AB049317.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
AB049310.1	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAG	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC
EU909427.1	TGGGTGTTGG	TCGCCCTGTG	CGTGAACTGA	ACGTCGTCCC	CGCCGTGTTG	GGATGAGTCC
Sampel	TGGTTGTTGG	TCGTCGCGAA	CGGGATTCTGA	ACGTCGTCCC	CGTCGTGTTG	GGATGAGTCC

	665	675	685	695	705	715
AF414500.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
KX065412.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCAGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
KX065415.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCAGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
KX065413.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCAGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339676.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCGGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG

AY339671.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339683.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339673.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GCGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339735.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339732.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339734.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
KJ872143.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCAGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AY339694.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG
AB049302.1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCGGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATC---
AB049317.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GCGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATC---
AB049310.1	TCAAGAGACC	CTGCGTGATT	TGCGGCGTCG	GGGTGAAAAGT	GCCATGTCCA	TCAAATC---
EU909427.1	TCAAGAGACC	CWGTGTGATT	-GCGGCGTCG	CA-TGAAAAGT	GCCGTGTCCA	TCAAATTTGTG
Sampe1	TCAAGAGACC	CTGTGTGATT	TGCAGCGTCG	GG-TGAAAAGC	GCCATGTCCA	TCAAATCGTG

.....
725	735	745	755	765	775	

AF414500.1	GCCCCAAGTC	AGGCGAGGCC	-ACCCGCCGA	GTTTAAGCAT	ATAAATAAGC	GGAGGAGGAG
KX065412.1	GCCCCAAGTC	AGGCGAGGCC	-ACCCGCCGA	GTTTAAGCAT	ATCAATAAGC	-----
KX065415.1	GCCCCAAGTC	AGGCGAGGCC	-ACCCGCCGA	GTTTAAGCAT	AT-----	-----
KX065413.1	GCCCCAAGTC	AGGCGAGGCC	-ACCCGCCGA	GTTTAAGCAT	AT-----	-----
AY339676.1	GCCCCAAGTC	AGGC-----	-----	-----	-----	-----
AY339671.1	GCCCCAAGTC	AGGC-----	-----	-----	-----	-----

```

AY339683.1  GCCCCAAGTC AGGC-----
AY339673.1  GCCCCAAGTC AGGC-----
AY339735.1  GCCCCAAGTC AGGC-----
AY339732.1  GCCCCAAGTC AGGC-----
AY339734.1  GCCCCAAGTC AGGC-----
KJ872143.1  GCCCCAAGTC AGGCG-----
AY339694.1  GCCCCAAGTC AAGCGAGGCC -ACCCGCCGA GTTTAA----
AB049302.1  -----
AB049317.1  -----
AB049310.1  -----
EU909427.1  GCCCCAAGTC AGGCGAGGCC CACCCGCCGA GTTTAAGCA-
Sampel      GCCCCAAGTC AGGCGAGGCC -ACCCGCCGA GTTTAAGCAT ATAAATAAGC GGAGGAGGAG

      ....|....| ....|....| ....|....| ..
      785      795      805

AF414500.1  AAACTTACGA GGATTCCCC-
KX065412.1  -----
KX065415.1  -----
KX065413.1  -----
AY339676.1  -----
AY339671.1  -----
AY339683.1  -----

```


AY339673.1	-----	-----	-----	--
AY339735.1	-----	-----	-----	--
AY339732.1	-----	-----	-----	--
AY339734.1	-----	-----	-----	--
KJ872143.1	-----	-----	-----	--
AY339694.1	-----	-----	-----	--
AB049302.1	-----	-----	-----	--
AB049317.1	-----	-----	-----	--
AB049310.1	-----	-----	-----	--
EU909427.1	-----	-----	-----	--
Sampel	AAACTTACAA	GGATTCCCCT	AGTAACGGCG	AG

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Devi Octavia
2. Tempat &Tgl Lahir: Brebes, 21 Oktober 1999
3. Alamat : Ds. Siwuluh RT 05/ RW 02
Kec. Bulakamba Kab. Brebes
4. HP : 085200430952
5. E-mail : octaviadevi372@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. Madrasah Ibtidaiyah 01 Misnaul Ulum lulus tahun 2012
 - b. SMPN 01 Bulakamba lulus tahun 2015
 - c. SMA Ma'arif Bulakamba lulus tahun 2018
 - d. UIN Walisongo
2. Pendidikan Non-Formal
Ma'had Al-Jami'ah Walisongo