

**ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA DAUN LEBAR
(*Ficus racemosa*) Di SUAKA RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN
RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN BADAK SUMATERA
(*Dicerorhinus sumatrensis*) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

(Skripsi)

Oleh

NADA RISA ZAIN



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2019

**ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA DAUN LEBAR
(*Ficus racemosa*) Di SUAKA RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN
RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN BADAK SUMATERA
(*Dicerorhinus sumatrensis*) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

**Oleh
Nada Risa Zain**

ABSTRAK

Badak sumatera adalah mamalia dari Ordo *Perissodactyla*, termasuk dalam daftar merah *The International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dengan status kritis dan salah satu jenis satwa yang dilindungi berdasarkan Undang-Undang Perlindungan Binatang Liar tahun 1931 No. 134 dan No. 226. Suaka Rhino Sumatera (SRS) di Taman Nasional Way Kambas (TNWK) merupakan suatu kawasan konservasi *semi in-situ* yang dinaungi oleh Yayasan Badak Indonesia (YABI). Tujuh individu badak sumatera terdapat di SRS dengan berat tubuh sekitar 500-700 kg. Setiap individu badak sumatera memerlukan pakan sekitar 50-60 kg perhari dari 10% berat tubuhnya. Hutan SRS hanya dapat memenuhi 50% akibat kuantitas tumbuhan yang berkurang. Hal ini menyebabkan badak sumatera membutuhkan pakan tambahan selain pakan alaminya. Desa Labuhan Ratu VII merupakan desa yang berbatasan langsung dengan kawasan TNWK, terdapat program penanaman tumbuhan pakan badak sumatera. Salah satu jenis yang ditanam adalah ara daun lebar (*Ficus racemosa*). Tujuan penelitian adalah membandingkan antara tanaman *Ficus racemosa* di SRS dan yang ditanam di Desa Labuhan Ratu VII secara genetik. Ekstraksi DNA dengan penggunaan 18S rDNA untuk hubungan kekerabatan. Hasil analisis yang diperoleh antara tanaman *Ficus racemosa* di SRS dan Desa Labuhan Ratu VII memiliki jarak genetik sebesar 0,000 dengan kemiripan 100%, diperkuat dengan pohon kekerabatan. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman *Ficus racemosa* pada kedua lokasi tersebut merupakan spesies sama, dan dapat dijadikan sumber pakan alternatif untuk badak sumatera di SRS.

Kata Kunci : Analisis filogenetik, Badak sumatera, *Ficus racemosa*.

**ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA DAUN LEBAR
(*Ficus racemosa*) Di SUAKA RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN
RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN BADAQ SUMATERA
(*Dicerorhinus sumatrensis*) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

Oleh

NADA RISA ZAIN

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS (S.Si.)**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

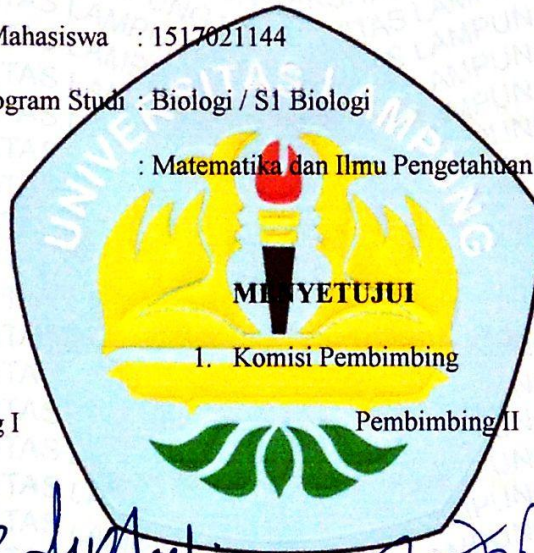
Judul Skripsi : **ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA
DAUN LEBAR (*Ficus racemosa*) DI SUAKA
RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN
RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN
BADAK SUMATERA (*Dicerorhinus sumatrensis*)
TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

Nama Mahasiswa : *Nada Risa Zain*

No. Pokok Mahasiswa : 1517021144

Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi

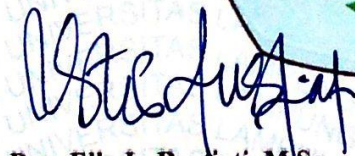
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Dra. Elly L. Rusniati, M.Sc.
NIP. 19631014 198902 2 001



Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.
NIP. 19791230 200812 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi
FMIPA Unila



Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

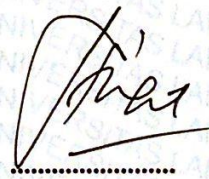
Ketua : Dra. Elly L. Rustiati, M.Sc.



Sekretaris : Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Drh. Eko Agus Srihanto. M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.
MP. 19640604199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 Agustus 2019

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nada Risa Zain

NPM : 1517021144

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA DAUN LEBAR
(*Ficus racemosa*) Di SUAKA RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN
RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN BADAK SUMATERA
(*Dicerorhinus sumatrensis*) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS”**

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan / atau program studi untuk kepentingan publikasi. Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2019

Yang menyatakan,



(Nada Risa Zain)

NPM. 1517021144.

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Astomulyo, Punggur, Lampung Tengah pada tanggal 20 Juni 1998, sebagai putri pertama dengan tiga bersaudara dari pasangan Bapak Syaiful Mu'min dan Ibu Eni Kusrini. Mempunyai dua orang adik yaitu Sefiana Desinta dan Azka Banyu Trisakti.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di Sekolah Dasar Negeri 1 Astomulyo pada tahun 2009. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di Pondok Pesantren Walisongo pada tahun 2012, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas di Madrasah Aliyah Negeri (MAN) 1 Terbanggi Besar pada tahun 2015. Di tahun yang sama penulis diterima oleh Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung (UNILA) dengan Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Mandiri Universitas Lampung (SIMANILA).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang

Ekspedisi pada periode 2016 – 2017. Pada tahun 2016 penulis melakukan Karya Wisata Ilmiah di Desa Air Nanningan, Tanggamus selama 7 hari. Pada tahun 2018 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kagungan Ratu, Kecamatan Tulang Bawang Barat, Kabupaten Lampung Tengah selama 40 hari dari bulan Juli – Agustus 2018.

Pada Tahun 2018 Penulis melaksanakan Kerja Praktik (KP) di Taman Nasional Way Kambas, Lampung Timur, Lampung. Penulis juga berpartisipasi di Seminar Nasional Hasil – Hasil Penelitian LPPM Universitas Lampung sebagai pemakalah dengan judul **“TEKNIK PENGENALAN TANDA TIDAK LANGSUNG KEBERADAAN BADAK SUMATERA (*DICERORHINUS SUMATRENSIS*) DI SUAKA RHINO SUMATERA, TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS”**

Saat ini penulis menyelesaikan tugas akhir dengan judul : **“ANALISIS FILOGENETIK TANAMAN ARA DAUN LEBAR (*Ficus racemosa*) DI SUAKA RHINO SUMATERA DAN DESA LABUHAN RATU VII SEBAGAI ALTERNATIF PAKAN BADAK SUMATERA (*Dicerorhinus sumatrensis*) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS”** bekerja sama dengan Suaka Rhino Sumatera, Taman Nasional Way Kambas.

Kini dengan penuh perjuangan, kerja keras, dan proses pembelajaran yang tiada henti, akhirnya penulis dapat menyelesaikan pendidikan Strata 1 (satu) di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

MOTTO

*"Jadikanlah hidup ini dengan memberi yang sebanyak-banyaknya ke sesama,
jangan jadikan hidup ini dengan menerima yang sebanyak-banyaknya"*

(Laskar Pelangi)

"Raihlah ilmu, dan untuk meraih ilmu belajarlah untuk tenang dan sabar.

(Khalifah Umar)

*"Jangan pernah berpikir bahwa mimpimu tidak akan mungkin tercapai hanya
karena mereka tidak terwujud dalam waktu dekat"*

(Jack Ma)

*"Lakukanlah sesuatu dengan niat ikhlas hanya karena Allah SWT., niscaya
semuanya akan terasa mudah dan lancar, serta menjadi berkah hingga di
akhirat"*

(Penulis)

Jika orang tuamu pernah gagal, kamu jangan !

(Penulis)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah dengan mengucap rasa syukur Kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas takdirMu Engkau jadikan hamba manusia yang senantiasa berfikir, berilmu, beriman, dan sabar dalam menjalani kehidupan ini.

Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan karya kecilku ini untuk kedua orang tuaku bapak Syaiful Mu'min dan ibu Eni Kusri, terimakasih atas segala sesuatu yang telah dilakukan untukku dengan ikhlas, mulai dari membesarkanku, mendidikku serta bekerja banting tulang yang tiada ternilai harganya. Terimakasih atas semua pengorbanan cinta dan kasih sayang tanpa batas yang terpancar dalam setiap lantunan do'a yang selalu diutarakan untukku dan restumu yang selalu mengiringi langkah anakmu selama ini.

Adikku Sefiana Desinta dan Azka Banyu Trisakti, serta seluruh keluarga besarku yang selalu memberi semangat dan dukungan disetiap langkahku untuk menyelesaikan studiku.

Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan Ilmu dengan tulus Ikhlas serta sahabat-sahabatku yang selalu mendukung dan menemaniku saat senang maupun sedih.

Almamaterku tercinta

Universitas Lampung

SANWACANA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT., yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah serta cinta dan kemurahanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Analisis Filogenetik Tanaman Ara Daun Lebar (*Ficus racemosa*) di Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII Sebagai Alternatif Pakan Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) Taman Nasional Way Kambas**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis mendapat bantuan dari berbagai pihak yang selalu memberikan semangat dan dorongan agar terus maju. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Orang tuaku tercinta, Bapak Syaiful Mu'min serta kedua ibuku Ibu Eni Kusriani dan Ibu Marfu'ah yang telah banyak memberikan perhatian, kasih sayang, serta doa, juga dukungan baik moril maupun materil. Terimakasih atas semuanya. Semoga Allah menyayangi beliau.
2. Untuk ketiga adikku Sefiana Desinta, Azka Banyu Trisakti, dan Nafisa Aurelia Cantika terimakasih atas semangat dan kasih sayang kalian.

3. Untuk Mbah kakung dan Mbah putriku, H. Jaimin dan Hj. Mahwiyah serta H. Ahmad Kholil dan Hj. Jariyah Terimakasih atas segala doa, kasih sayang, perhatian dan motivasi untuk terus mengejar cita-citaku. Semoga beliau selalu diberi kesehatan oleh Allah SWT.
4. Ibu Dra. Elly L. Rustiati M.Sc., selaku Pembimbing 1 yang telah dengan sabar memberi masukan, saran serta membimbing selama proses pembuatan skripsi ini.
5. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M. Si., selaku Pembimbing 2 yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian, dan membagi ilmu serta membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Drh. Eko Agus Srihanto, M. Si., selaku Penguji yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam memperbaiki skripsi ini.
7. Bapak Ir. Zulkifli M.Sc. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan selama waktu menyelesaikan skripsi ini.
8. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak Drs. M. Kanedi M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak dan Ibu dosen, serta seluruh staff Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, khususnya di Jurusan Biologi atas ilmu, dukungan, dan pengalaman yang telah banyak diberikan kepada penulis.
11. Tim Suaka Rhino Sumatera, kepada Bapak Drh. Zulfi Arsan, Ibu Drh. Agvinta Nilam, Ibu Drh. Ni Made Vera dan seluruh *keeper* termasuk Bapak

Lamijo, penulis mengucapkan terimakasih atas waktu, dukungan dan bantuannya untuk kelancaran skripsi ini.

12. Tim *Rhino Protection Unit*, Mas Sunandar dan Mas Tatang, penulis mengucapkan terimakasih atas waktu dan bantuan dalam pengambilan sampel di Desa Labuhan Ratu VII.
13. Terkhusus untuk Rinto Maulana, S.M. atas waktu yang selalu ada, dukungan, bantuan, perhatian dan menjadi pendengar yang baik dikala keluhku. Penulis mengucapkan banyak terimakasih, semoga sehat selalu.
14. Untuk sahabat tercintaku Dewi Larasati, Terimakasih telah menjadi sahabat di sebagian kecil perjalananku hingga saat ini. Untuk doa dan waktu, serta perhatiannya. Semoga sehat dan sukses selalu.
15. Kepada para personil “Calulls Inc.” Siti Mardiana, Winda Yulia N., Tia Annisa, Yunita, Sundari Ayu Oktalia., Inaas Fadhilah, Sri Rahmaning Tiyas, Noufallia Fikri Arra, yang selalu memberi dukungan, semangat serta ilmu dalam menyelesaikan skripsi ini.
16. Untuk Maria Bramastri Susilo, S.Si. dan Dian Neli Pratiwi, S.Si yang telah banyak membantu penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.
17. Kepada teman-teman Angkatan 2015 atas kebersamaan, dukungan dan doanya dalam penyusunan skripsi ini.
18. Kepada “Tim Sukses”, Elsa Virna Renata, Darlina, Tria Larasati, Novia K.S. dan Chicka Refina, terimakasih telah berjuang bersama, membantu dan menemani dalam penyusunan skripsi ini.
19. Almamaterku tercinta Universitas Lampung dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Hanya Allah SWT. yang dapat membalas kebaikan kalian semua. Semoga ini akan menjadi hal yang terbaik untuk kita semua. Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan dalam penulisan di kemudian hari.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2019

Penulis

Nada Risa Jain

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR.....	xxi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Manfaat Penelitian.....	4
D. Kerangka Pikir.....	4
E. Hipotesis.....	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bioekologi Badak Sumatera.....	6
1. Perilaku Makan Badak Sumatera.....	7
2. Populasi Badak Sumatera	10
B. Habitat	11
1. Taman Nasional Way Kambas.....	11
2. Yayasan Badak Indonesia	13
3. Suaka Rhino Sumatera.....	14
C. Pakan Badak Sumatera.....	15
D. Karakteristik DNA.....	17
1. Ekstraksi DNA	18
2. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA.....	18
3. 18S ribosomal DNA.....	19
4. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	19
5. Elektroforesis	21
6. Sekuensing	22
7. Pensejajaran Runutan Nukleotida (<i>Alignment</i>).....	22

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	24
B. Alat dan Bahan.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan	25
C. Prosedur Penelitian.....	26
1. Survei Pendahuluan.....	26
2. Pengambilan Sampel <i>Ficus racemosa</i>	26
3. Ekstraksi DNA	27
4. Analisis kemurnian dan konsentrasi DNA Total	28
5. Amplifikasi	29
6. Elektroforesis	30
7. Sekuensing	30

D. Analisis Data	30
1. Merunut urutan basa nukleotida	31
2. Analisis jarak genetik dan homologi	34
3. Membuat konstruksi pohon kekerabatan.....	40
E. Diagram Alir Penelitian.....	42
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil dan Pembahasan.....	43
1. Hasil Ekstraksi DNA Sampel	44
2. Hasil Elektroforesis	46
3. Elektroferogram Hasil Sekuensing.....	48
4. Urutan Sekuen	50
5. Konstruksi Pohon Kekerabatan	53
6. Aspek Konservasi.....	53
V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	55
B. Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sekuen primer 18S rDNA	29
Tabel 2. Hasil uji kualitatif dan kuantitatif DNA <i>Ficus racemosa</i>	43
Tabel 3. Nilai Jarak Genetik dan Homologi.....	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Badak sumatera Delilah di Suaka Rhino Sumatera	7
Gambar 2. Peta Taman Nasional Way Kambas	12
Gambar 3. Morfologi <i>Ficus racemosa</i>	16
Gambar 4. Proses PCR	21
Gambar 5. Proses elektroforesis menggunakan <i>Qiaxcel Advanced</i>	22
Gambar 6. Langkah pertama merunut basa nukleotida	31
Gambar 7. Langkah kedua merunut basa nukleotida	32
Gambar 8. Langkah ketiga merunut basa nukleotida	32
Gambar 9. Langkah keempat merunut basa nuklotida	33
Gambar 10. Langkah kelima merunut basa nukleotida	33
Gambar 11. Langkah keenam runutan basa nukleotida	34
Gambar 12. Langkah pertama analisis jarak genetik	35
Gambar 13. Langkah kedua analisis jarak genetik	35
Gambar 14. Langkah ketiga analisis jarak genetik	36
Gambar 15. Langkah keempat analisis jarak genetik	36
Gambar 16. Langkah kelima analisis jarak genetik	37
Gambar 17. Langkah keenam analisis jarak genetik	37

Gambar 18. Langkah ketujuh analisis jarak genetik	38
Gambar 19. Langkah kedelapan analisis jarak genetik.....	38
Gambar 20. Langkah kesembilan analisis jarak genetik.....	39
Gambar 21. Langkah kesepuluh analisis jarak genetik.....	39
Gambar 22. Langkah pertama konstruksi pohon kekerabatan	40
Gambar 23. Langkah kedua konstruksi pohon kekerabatan	40
Gambar 24. Langkah ketiga konstruksi pohon kekerabatan	41
Gambar 25. Diagram alir penelitian.....	42
Gambar 26. Hasil visualisasi DNA <i>Ficus racemosa</i>	47
Gambar 27. Elektroforegram 18s rDNA <i>Ficus racemosa</i> SRS <i>forward</i>	48
Gambar 28. Elektroforegram 18s rDNA <i>Ficus racemosa</i> SRS <i>reverse</i> .	48
Gambar 29. Elektroforegram 18s rDNA <i>Ficus racemosa</i> Desa <i>forward</i>	49
Gambar 30. Elektroforegram 18s rDNA <i>Ficus racemosa</i> Desa <i>reverse</i>	49
Gambar 31. Konstruksi pohon kekerabatan	53

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Badak sumatera (*Dicerhorinus sumatrensis*) merupakan mamalia dari Ordo *Perissodactyla*, salah satu badak terkecil dan jenis yang paling primitif dari kelima jenis badak yang masih hidup (Groves dkk., 2010 dalam Rusman, 2016). Keberadaan badak sumatera di Indonesia adalah di Pulau Sumatera dan Kalimantan. Di Kalimantan badak sumatera dapat ditemukan di Provinsi Kalimantan Timur, Barat dan Tengah (Nardelli, 2014 dalam Rusman, 2016). Di Pulau Sumatera dapat ditemukan di tiga bentang alam yaitu Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (TNBBS), Taman Nasional Gunung Leuser (TNGL), dan Taman Nasional Way Kambas (TNWK).

Populasi badak sumatera pada tahun 1993 diperkirakan berjumlah sekitar 356 - 495 individu yang tersebar di Malaysia dan Indonesia (Foose dkk., 1997 dalam Rusman, 2016). Pada tahun 2011 diperkirakan hanya 216 - 284 individu (Zafir dkk., 2011 dalam Rusman, 2016) dan jumlahnya terus menurun (Talukdar, 2011 dalam Rusman, 2016). Berdasarkan Undang-Undang Perlindungan Binatang Liar tahun 1931 No. 134 dan No. 226 badak sumatera dinyatakan sebagai salah satu

jenis satwa yang dilindungi (Jajak, 2014 dalam Asiyah, 2017) dan kategori *Critically Endangered* dalam *Red Data Book* oleh IUCN (Kurniawanto, 2007 dalam Jati, 2015). Salah satu upaya untuk mempertahankan populasi badak sumatera adalah telah dibangunnya lokasi konservasi *semi in situ* penyelamatan badak sumatera pada tahun 1996, yang dikenal dengan Suaka Rhino Sumatera (SRS). Suaka Rhino Sumatera merupakan bagian dari Taman Nasional Way Kambas (TNWK) yang diinisiasi oleh Yayasan Badak Indonesia (YABI) bekerja sama dengan Kementerian Kehutanan. Yayasan Badak Indonesia atau *The Rhino Foundation of Indonesia* merupakan lembaga yang bertanggung jawab atas konservasi keanekaragaman hayati dan badak di Indonesia oleh Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam Kementerian Kehutanan Republik Indonesia (PHKA) yang memiliki tujuan khusus untuk penangkaran dan pengembangbiakan badak sumatera.

Badak sumatera memiliki areal jelajah yang cukup luas, topografi habitat alami dan pakan yang cukup dengan variasi lengkap dengan diberi daun dan buah tambahan agar kebutuhan pakannya terpenuhi (YABI, 2015). Badak sumatera memiliki berat antara 500 - 1000 kg dengan rerata 700 - 800 kg (Nowak, 1991 dalam Rusman, 2016). Setiap individu badak sumatera memerlukan pakan sekitar 50 - 60 kg perhari dari 10% berat tubuhnya (Mongabay, 2015). Pakan yang dibutuhkan untuk tujuh ekor badak sumatera di SRS adalah sekitar 500 kg setiap harinya. Hal ini menyebabkan kuantitas tumbuhan pakan di hutan SRS berkurang dalam waktu jangka panjang, sehingga badak sumatera tidak bisa meraih pucuk daun seperti perilaku makannya.

Di Desa Labuhan Ratu VII dilakukan pendampingan penanaman tumbuhan pakan badak sumatera. Desa Labuhan Ratu VII terletak di Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur yang merupakan salah satu desa penyangga yang berbatasan langsung dengan TNWK. Lahan seluas 1250 m² diberikan kepada Tim Jurusan Biologi, Universitas Lampung untuk dikelola (Priyambodo dan Rustiati, 2016). Penanaman ini merupakan program konservasi YABI - UNILA sebagai pemenuhan kebutuhan sumber pakan badak sumatera dan sebagai sarana ekonomi alternatif masyarakat desa yang apabila penanaman tersebut berhasil maka akan menjadi penyedia sumber pakan badak sumatera bagi SRS, TNWK.

Jenis tumbuhan yang ditanam adalah kasapan (*Crocon caudatus*), akar merah (*Mussaendra frondosa*), sirihan (*Piper retrofactum*), pulai (*Alstonia scholaris* (L.)), putihan (*Clibadium surinaraense*), mahang (*Macaranga* sp) dan ara daun lebar (*Ficus racemosa*) (Mongabay, 2015). Ketujuh badak sumatera di SRS rata-rata menyukai tumbuhan *Ficus racemosa* karena memiliki banyak getah pada daun dan batangnya (Pers. Lamijo, comm), sehingga penelitian ini digunakan tanaman ara daun lebar (*Ficus racemosa*).

Penelitian diperlukan untuk mengetahui kemiripan secara genetik antara tanaman *Ficus racemosa* SRS dan yang ditanam di Desa Labuhan Ratu VII, TNWK agar dapat digunakan sebagai sumber pakan alternatif badak sumatera. Analisis sekuen dengan 18S ribosomal DNA digunakan untuk studi kekerabatan pada tingkat spesies suatu organisme (Seprianto, 2017). Hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi dan menjadi bahan pertimbangan dalam pelestarian pakan

badak sumatera di TNWK. Informasi keragaman genetik juga diperlukan dalam rangka mendukung upaya konservasi (Indrawan dkk., 2007 dalam Asiyah, 2017).

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kemiripan tanaman *Ficus racemosa* di Suaka Rhino Sumatera dan yang ditanam di Desa Labuhan Ratu VII, TNWK menggunakan sekuen 18S ribosomal DNA.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk data dan informasi bagi tim YABI, SRS serta masyarakat sebagai upaya pelestarian keanekaragaman hayati tanaman pakan badak sumatera dan strategi konservasi badak sumatera yang berstatus kritis di TNWK.

D. Kerangka Pikir

Upaya konservasi badak sumatera salah satunya dilakukan di SRS, TNWK yang merupakan kawasan perlindungan dan perkembangbiakan di habitat alami. Suaka Rhino Sumatera berperan penting dalam langkah – langkah konservasi, salah satunya dalam perlindungan dan pengembangbiakan badak sumatera.

Identifikasi sifat genetik memiliki manfaat penting dalam upaya konservasi sumber daya hayati dan dapat memberikan informasi tambahan untuk melihat filogenetik suatu spesies. Analisis kemiripan suatu organisme dengan organisme

lain menggunakan sekuen DNA adalah metode analisis yang paling terpercaya saat ini.

Penelitian dilakukan dengan membandingkan antara *Ficus racemosa* SRS dan Desa Labuhan Ratu VII dengan sekuen 18S ribosomal DNA, yang akan diketahui kemiripannya secara genetik. Analisis filogenetik tanaman pakan badak sumatera belum pernah dilakukan, sehingga dilakukan penelitian yang berjudul “Analisis filogenetik tanaman ara daun lebar (*Ficus racemosa*) di Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII sebagai alternatif pakan badak sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) Taman Nasional Way Kambas”.

E. Hipotesis

Terdapat kemiripan secara genetik antara tanaman *Ficus racemosa* di Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII, TNWK berdasarkan sekuen 18S ribosomal DNA.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bioekologi Badak Sumatera

Badak sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) merupakan satu dari lima spesies badak dunia yang masih tersisa dengan ukuran tubuh paling kecil dan paling primitif dibandingkan empat badak lainnya (Strien, 1974 dalam Rusman, 2016) meliputi *Rhinoceros sundaicus* (badak jawa), *Rhinoceros unicornis* (badak india), *Ceratotherium simum* (badak putih afrika) dan *Diceros bicornis* (badak hitam afrika) (Foose dkk., 1997 dalam Rusman, 2016). Badak sumatera memiliki tinggi tubuh 112 - 145 cm, panjang tubuh 2,36 - 3,18 meter, dan panjang ekor 35 - 70 cm dan berat tubuh berkisar 700 - 800 kg (Nowak, 1991 dalam Rusman, 2016). Kulit badak sumatera berwarna merah kecoklatan dan memiliki lapisan yang tebal, kepala besar dengan dua buah cula yaitu cula nasalis dan cula frontalis. Cula nasalis berukuran lebih besar dari cula frontalis (Groves, 1965 dalam Rusman, 2016) (Gambar 1).



Gambar 1. Badak sumatera Delilah di Suaka Rhino Sumatera

Menurut (Djuri, 2009 dalam Zahrah, 2018). klasifikasi badak sumatera adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Mammalia
 Suku : Perissodactyla
 Bangsa : Rhinocerotidae
 Marga : *Dicerorhinus*
 Jenis : *Dicerorhinus sumatrensis*

1. Perilaku Makan Badak Sumatera

Badak sumatera termasuk satwa soliter dan satwa "browser" dengan pakan utama adalah jenis daun. Menurut Rusman (2016) badak sumatera memakan buah, daun, ranting dan kulit kayu dengan preferensi (kesukaan) pakan berupa jenis tumbuhan yang mengandung getah. Jenis pakan badak sumatera terdapat sekitar 102 yang terdiri dari 44 famili, 82 jenis dimakan bagian daunnya, 17

jenis dimakan bagian buahnya, 7 jenis dimakan bagian kulit dan batangnya serta 2 jenis dimakan bagian bunganya (Van Strien, 1974 dalam Rusman, 2016). Secara umum, badak biasanya makan pada malam hari, pagi hari dan pada sore hari. Menurut Strien (1985) dalam (Alikodra dkk., 2012) bahwa aktivitas makan badak sumatera dilakukan secara intensif di daerah jalur makanan sewaktu berjalan. Waktu makan yang intensif dilakukan pada tengah malam dan pagi hari. Perilaku makan badak jawa yang telah teridentifikasi adalah bahwa bagian tumbuhan yang dimakan cukup bervariasi, seperti tunas, pucuk daun muda, ranting, dahan pohon muda, kulit kayu, serta biji. Jenis pakan dikenali dari bekas makanan yang ditinggalkan atau kotoran yang masih menyisihkan potongan ranting, daun, serat kayu, serta biji. Badak jawa menggunakan cara – cara sebagai berikut (Sajudin, 1984 dalam Alikodra dkk., 2012) :

1. Dipangkas

Tinggi pohon yang akan dimakan berada dalam jangkauan badak, sehingga tidak diperlukan cara lain.

2. Ditarik

Pada tumbuhan yang merambat pada pohon, maka tumbuhan yang akan dimakan sebelumnya ditarik dengan cara menggigitnya atau menekannya dengan leher, ditarik menggunakan culanya. Setelah bagian tumbuhan yang disukainya berada dalam jangkauan, maka tumbuhan tersebut dimakan.

3. Dirobuhkan

Tumbuhan yang disukai berupa pohon tinggi (tiang) berukuran 10x10 meter, sebelum bagian yang disukai berada dalam jangkauan, maka tumbuhan tersebut dirobuhkan dahulu. Tingkah laku merobuhkan pohon ternyata hanya karena bagian pohon tersebut disukai, atau sering pula badak merobuhkan pohon hanya untuk mengambil liana yang merambat pada pohon tersebut.

4. Dipatahkan

Pada batang yang tinggi karena bagian tumbuhan yang disukai diluar jangkauan. Batang pohon yang dipatahkan hanya memiliki diameter tertentu. Pematihan dilakukan dengan ditubruk dengan bahu kemudian bagian tumbuhan yang disukai dimakan.

Cara makan badak jawa tersebut sama dengan yang dilakukan badak sumatera, seperti yang teramati di Kebun Binatang Ragunan dan di SRS TNWK. Di SRS, badak melakukan pengambilan pakannya sebagian besar dengan cara dipangkas (86%), ditarik (9%), dan sisanya dengan dirobuhkan (Suharto, 2004 dalam Alikodra dkk, 2012). Jenis pakan yang berhasil diidentifikasi sebanyak 106 jenis tumbuhan. Tingkatan tumbuhan yang dimakan adalah 41% tingkat sapling, 31% tingkat pohon, 19% tingkat semak/*seedling*, dan liana sebanyak 9%. Umumnya, sama seperti di SRS, pohon – pohon yang dirobuhkan tidak mengalami kematian karena bertunas kembali sehingga menjadi sumber makanan baru bagi badak secara berkelanjutan. Cara merobuhkan pohon atau *sapling* biasanya dengan membengkokkan batang terlebih dahulu dengan

kepala, lalu batang tersebut digeser ke bawah kepala, leher, dan kemudian didorong semakin melengkung dengan kaki depan dan perutnya, sehingga daun – daun di ujung cabang mudah diraih bibirnya untuk dimakan. Di TNWK tanda – tanda *sapling* melengkung dengan bekas gigitan pada cabang – cabang yang daunnya telah dimakan merupakan tanda sekunder (tanda tidak langsung) keberadaan badak sumatera.

2. Populasi Badak Sumatera

Pada tahun 1993 diperkirakan 356 - 495 individu di Malaysia dan Indonesia (Foose dkk., 1997 dalam Zahrah, 2018). Pada tahun 2011 populasi diperkirakan hanya 216 - 284 individu, sedangkan di Semenanjung Malaysia dan Sabah diperkirakan 104 - 106 individu (Zafir *et al.*, 2011 dalam Putra, 2014). Di Indonesia kepunahan lokal badak sumatera terjadi di Taman Nasional Kerinci Seblat (TNKS) (Isnan, 2006 dalam Putra, 2014). Badak sumatera dapat dijumpai secara luas di lembah kaki gunung Himalaya, Bhutan dan India sebelah timur ke arah Myanmar, Thailand, Vietnam dan Cina, arah ke Semenanjung Malaysia, Pulau Sumatera dan Kalimantan. Di Indonesia, habitat badak sumatera terpecah dengan sebaran terkonsentrasi di Pulau Sumatera (TNGL, TNKS, Aceh Utara, TNBBS dan TNWK) dan di Pulau Kalimantan (Foose dkk., 1997 dalam Zahrah 2018).

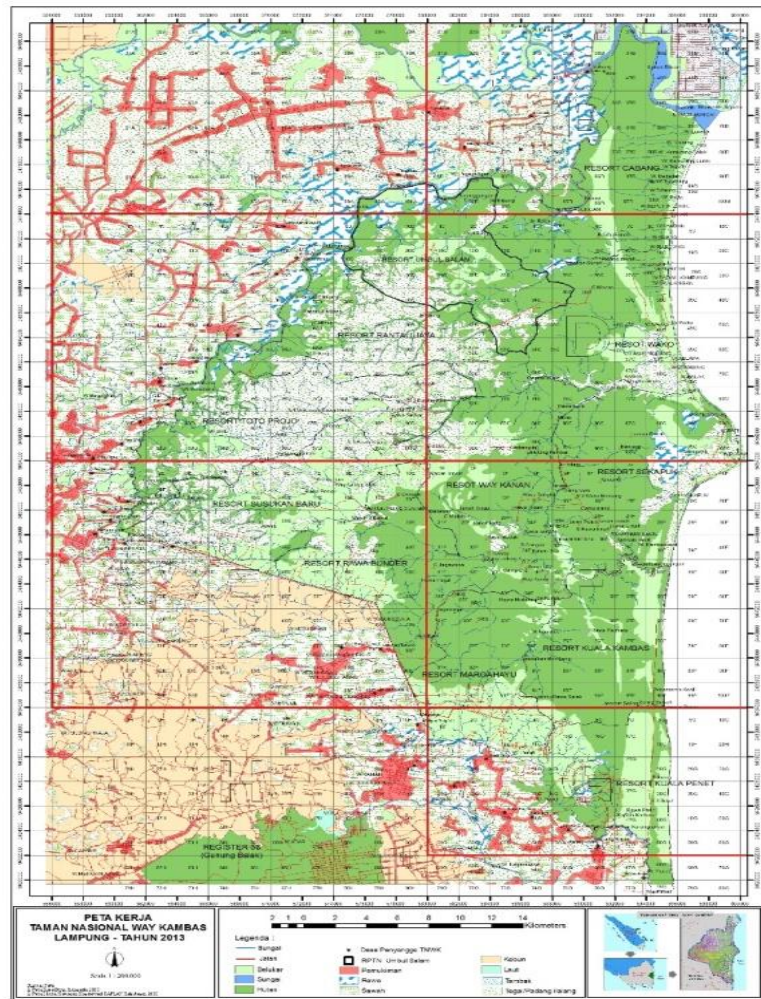
International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) menggolongkan spesies badak sumatera ke dalam golongan satwa yang kritis atau *critically endangered* sejak tahun 1996 (IUCN, 2011 dalam

Putra, 2014). Badak sumatera termasuk sebagai satu dari 100 satwa yang paling terancam punah di dunia (Baillie dan Butcher, 2012 dalam Putra, 2014). Organisasi perdagangan satwa dan tumbuhan *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (IUCN) menggolongkan ke dalam Apendiks I yang berarti badak sumatera dilindungi secara internasional dari segala bentuk perdagangan (CITES, 2011 dalam Putra, 2014).

B. Habitat

1. Taman Nasional Way Kambas

Taman Nasional Way Kambas (TNWK) merupakan kawasan konservasi untuk pelestarian hidupan liar, terletak di ujung selatan Sumatera, berjarak 110 km dari Bandar Lampung. Taman Nasional Way Kambas merupakan salah satu cagar alam tertua di Indonesia yang ditetapkan Menteri Kehutanan SK No. 670/Kpts-II/1999. Secara administratif TNWK terletak di Kabupaten Lampung Timur dan Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Luas sekitar 125.621,3 hektar, temperatur udara antara 28°C - 37°C dan memiliki curah hujan berkisar 2.500 - 3.000 mm/tahun, termasuk hutan dataran rendah dengan ketinggian tempat antara 0 - 60 m.dpl serta letak geografis 4°37' - 5°15' LS, 106°32' - 106°52'BT (Gambar 2) (Kementerian Kehutanan, 2002).



Gambar 2. Peta Taman Nasional Way Kambas (Sumber : waykambas.org)

Kawasan TNWK ditetapkan sebagai kawasan pelestarian alam untuk melindungi berbagai satwa liar, di antaranya tapir (*Tapirus indicus*), gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*), rusa sambar (*Cervus unicolor*), kijang (*Muntiacus muntjak*), harimau sumatera (*Panthera tigris sumatrae*), beruang madu (*Helarctos malayanus*) dan badak sumatera (*Dicerhorinus sumatrensis*). Zona khusus konservasi bagian dari taman nasional yang letak, kondisi dan potensinya digunakan untuk kepentingan khusus satwa langka yaitu badak sumatera. Lima mitra kerja TNWK dalam upaya konservasi

genetis dan pengamanan hutan di antaranya adalah *Wildlife Conservation Society* (WCS), Aliansi Lestari Rimba Terpadu (AleRT), Program Konservasi Harimau Sumatera (PKHS), Komunitas untuk Hutan Sumatera (KHS), serta Yayasan Badak Indonesia (YABI) yang terdiri dari *Rhino Protection Unit* (RPU) dan Suaka Rhino Sumatera (SRS). Suaka Rhino Sumatera merupakan mitra kerja yang mendukung TNWK dalam menangani konservasi badak sumatera (Waykambas, 2005).

2. Yayasan Badak Indonesia

Yayasan Badak Indonesia (YABI) atau *The Rhino Foundation Of Indonesia* adalah lembaga yang bertanggung jawab atas konservasi keanekaragaman hayati dan badak di Indonesia oleh Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam, Kementerian Kehutanan Republik Indonesia (PHKA) dalam surat persetujuan No. S.63 IV-KKH / 2007 tanggal 18 Januari 2007 yang diberikan kepada Dewan Pembina Yayasan Mitra Badak dan Yayasan Badak Internasional. Organisasi yang tergabung dalam konservasi badak di Indonesia termasuk Yayasan Mitra Badak (YMR), Yayasan Suaka Badak Sumatera (YSRS), dan Program Konservasi Badak Indonesia (PKBI). Memiliki Visi dan misi yang meliputi terwujudnya kehidupan spesies badak jawa dan badak sumatera dalam habitat yang aman dan lestari secara berkelanjutan, melestarikan badak jawa dan badak sumatera melalui upaya perlindungan dan pemantauan terhadap populasi habitat, peningkatan pengembangbiakan, riset dan pengembangan, penyadartahuan, peningkatan kepedulian masyarakat

terhadap keberadaan badak, dan perlu adanya usaha - usaha konservasi (YABI, 2015).

3. Suaka Rhino Sumatera

Suaka Rhino Sumatera (*Sumatran Rhisno Sanctuary*) adalah suatu tempat untuk menyediakan kawasan perlindungan dan perkembang biakan badak sumatera di habitat alami. Suaka Rhino Sumatera berperan sebagai pusat program perlindungan badak *semi in-situ*. Pada tahun 1996 Pusat pengembang biakan badak sumatera dengan nama Suaka Rhino Sumatera mulai dibangun di dalam kawasan TNWK, Lampung. Suaka Rhino Sumatera ini adalah suaka pertama yang dibangun di Indonesia sesuai dengan rekomendasi lokakarya Pengembangan Suaka Badak Sumatera tahun 1994 di Safari Garden Hotel, Cisarua, Bogor. Taman Nasional Way Kambas terpilih sebagai lokasi pertama dibangunnya SRS melalui proses seleksi terhadap beberapa kawasan yang potensial sebagai pusat pengembangbiakan badak sumatera, diantaranya adalah Sukaraja (TNBBS), Bangko - Jambi dan Air Seblat (TNKS), Sungai Lengan (TNGL) dan Way Kambas – Lampung (TNWK) (YABI, 2015). Suaka Rhino Sumatera tergabung dalam Yayasan Badak Indonesia (YABI) pada tahun 2007 melalui Rapat Gabungan Penyantun dan Badan Pengurus yayasan. Tahun 1999 pembiayaan kegiatan konservasi badak di Asia Tenggara dilakukan oleh IRF dan WWF sebagai donatur. Suaka Rhino Sumatera bergerak dalam bidang pelestarian populasi badak sumatera di TNWK, yang di dalamnya terdapat kegiatan pemeliharaan (perawatan, pemeriksaan kesehatan, pemberian pakan) serta upaya reproduksi badak sumatera (Jati, 2015).

C. Pakan Badak Sumatera

Jenis tanaman pakan badak sumatera ditemukan 102 macam spesies dalam 44 familia tanaman yang disukai. Jenis tanaman pakan yang dimakan daunnya .sebanyak 82 jenis, jenis pakan yang dimakan buahnya sebanyak 17 jenis, jenis pakan yang dimakan kulit dan batang mudanya sebanyak 7 jenis dan jenis pakan yang dimakan bunganya sebanyak 2 jenis. Pakan utama badak sumatera adalah tegakan muda (*sapling*) atau tunas tumbuhan, daun muda, ranting muda, bambu, jahe - jahean dan buah - buahan seperti manga liar dan *Ficus* (Rusman, 2016).

Ficus merupakan tumbuhan Angiospermae, termasuk dalam Famili Moraceae dan tersebar di daerah tropis dan subtropis. *Ficus* menunjukkan beberapa bentuk pertumbuhan di antaranya perdu, pohon kayu, tumbuhan menjalar, epifit dan hemiepifit. Tumbuhan *Ficus* memiliki karakteristik berupa getah dengan jumlah yang sangat banyak pada kulit kayu, percabangan serta pada daun. Salah satu jenis tumbuhan *Ficus* yang disukai badak sumatera SRS adalah *Ficus racemosa* L., juga dikenal dengan nama daerah ara daun lebar. Secara morfologi *Ficus racemosa* L., memiliki ciri daun yang berwarna hijau tua, halus dan mengkilap, dengan panjang daun sekitar 10 - 15 cm, bentuk daun bulat agak meruncing, batang memiliki warna abu-abu kemerahan dengan permukaan lembut, bagian permukaan dalam berwarna coklat muda, tidak memiliki rasa dan bau yang khas (Gambar 3). Akar berukuran panjang, berwarna kecoklatan, memiliki bau yang khas dan memiliki rasa sedikit pahit, dan bentuk akarnya tidak teratur. Mempunyai bunga yang berwarna merah terletak dipangkal daun (Ulfah dkk., 2015 dalam Rasyid dkk., 2017). *Ficus racemosa* merupakan salah satu tumbuhan

yang paling disukai oleh ke tujuh badak sumatera di SRS karena batang dan daunnya banyak mengandung getah, badak sumatera menyukai jenis tumbuhan yang bergetah (Lisiawati, 2002 dalam Jati, 2015).



Gambar 3. Morfologi *Ficus racemosa*

Klasifikasi tumbuhan *Ficus racemosa* menurut Shiksharathi dan Mittal (2011) dalam Handayani (2015) adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Rosales
Suku : Moraceae
Marga : *Ficus*
Jenis : *Ficus racemosa*

Analisis filogenetik (kekerabatan) tumbuhan pakan badak sumatera di SRS, TNWK dapat dijadikan referensi sumber pakan dalam upaya konservasi badak sumatera. Kekekabatan pada tingkat spesies tumbuhan pakan dapat diketahui dengan menganalisis *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA). *Deoxyribo Nucleic Acid* adalah asam nukleat yang disimpan di dalam inti sel dan mitokondria, berisi materi genetik dan sifatnya dapat diturunkan (*herediter*) (Faatih, 2009 dalam Asiyah, 2017). Identifikasi sifat genetik memiliki manfaat penting dalam upaya konservasi sumber daya hayati. Informasi mengenai tingkat kelangkaan suatu spesies dapat diidentifikasi dengan sifat genetik yang didapat dengan melihat derajat polimorfisme. Identifikasi genetik juga dapat memberikan informasi tambahan untuk melihat filogenetik suatu spesies.

D. Karakteristik DNA

Molekul DNA adalah asam nukleat berisi materi genetik yang berfungsi mengatur perkembangan seluruh kehidupan secara biologis. Molekul DNA berstruktur pilinan utas ganda dari komponen gula pentosa (deoksiribosa), gugus fosfat, dan pasangan basa. Pasangan basa DNA terdiri dari basa pirin dan basa pirimidin. Basa purin terdiri dari adenin (A) dan timin (T) berbentuk cincin ganda, sedangkan basa pirimidin terdiri atas sitosin (C) dan guanin (G) dalam struktur cincin tunggal. Adenin selalu berpasangan dengan timin, sebagaimana sitosin dengan guanin. Kedua basa pada masing – masing pasangan terhubung oleh ikatan hidrogen. Kedua rantai berjalan memilin satu dengan yang lainnya pada rantai heliks ganda.

Teknik analisis DNA tanaman adalah sebagai berikut :

1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses untuk mendapatkan DNA yang murni dengan konsentrasi tinggi sehingga dapat digunakan untuk analisis molekuler tingkat lanjut (Fatchiyah dkk., 2011). Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni pemecahan sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley, 2008).

Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan menggunakan sampel daun tanaman pakan badak sumatera yaitu *Ficus racemosa* sesuai dengan protokol *DNeasy Plant Mini Kits* (Qiagen, 2013).

2. Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA

Pengukuran molekul DNA dapat dilakukan dengan cara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif dapat dilihat dengan mengetahui kemurnian DNA. Uji kuantitatif dapat dilihat dengan mengetahui konsentrasi DNA. Target yang ingin didapatkan adalah hasil ekstraksi DNA yang murni dan konsentrasi yang tinggi. Uji kualitatif dan kuantitatif DNA/RNA dapat dilakukan dengan alat *Spektrofotometri Uv-vis* yaitu DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet, karena adanya basa purin dan pirimidin (Fatchiyah dkk., 2011). Pita ganda DNA/RNA dapat menyerap UV 260 nm, sedangkan kontaminan berupa protein akan menyerap cahaya pada 280 nm. Kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung absorbansinya yaitu 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm (A_{260}/A_{280}). Nilai kemurnian DNA berkisar 1,8 - 2,0 (Hasrida dkk., 2016).

3. 18S ribosomal DNA

DNA ribosom (rDNA) adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA ribosom. Pada eukariot deret rDNA terdapat pada nukleus atau inti dan mitokondria. Daerah ribosomal DNA dipisahkan oleh suatu pembatas yang disebut *spacer*. Daerah konservatif ribosomal DNA yaitu gen yang mengkode pembentukan rRNA yaitu 5,8S, 18S dan 28S rDNA. Sekuen ribosomal DNA subunit kecil 18S berkembang relatif lambat dan digunakan untuk studi hubungan kekerabatan pada tingkat spesies suatu organisme (Seprianto, 2017).

4. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Proses yang terjadi pada teknik PCR hampir mirip dengan mekanisme DNA dalam memperbanyak jumlahnya di dalam sel. Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi *denaturasi*, *annealing* dan *extention* oleh *enzim DNA polimerase*. Sepasang primer oligonukleotida yang spesifik digunakan untuk membuat hibrid dengan ujung-5' dan ujung-3' untai DNA target dan mengamplifikasi urutan yang diinginkan. Menurut Fatchiyah (2005), dasar siklus PCR terdapat 30 - 35 siklus meliputi:

- *denaturation* (95°C), 30 detik
- *annealing* (55–60°C), 30 detik
- *extention* (72°C), waktu tergantung panjang pendeknya ukuran DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi (Gambar 4).

1. *Denaturasi* untai ganda DNA

Denaturasi untai ganda DNA merupakan langkah penting selama proses PCR. Pada awal proses pemisahan untai ganda DNA membutuhkan temperatur yang tinggi. Temperatur pada tahap *denaturasi* pada kisaran 92 - 95°C.

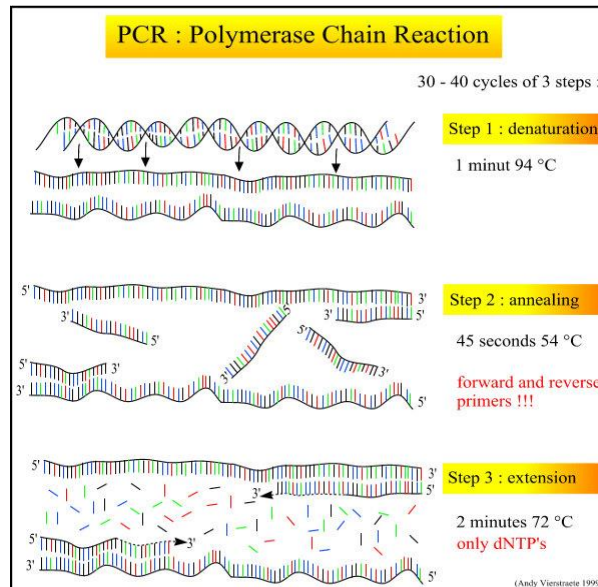
2. 12. Primer *Annealing*

Annealing (penempelan) merupakan suatu primer terhadap DNA target tergantung pada panjang untai dan konsentrasi primer. Optimalisasi temperatur *annealing* dimulai dengan menghitung 5°C di bawah *Melting Temperature* (T_m) dari ikatan primer dan DNA template. *Melting-temperature* yang tepat menggunakan rumus $T_m = \{(G+C) \times 4\} + \{(A+T) \times 2\}$. *Melting Temperature* dipengaruhi oleh komponen buffer, konsentrasi primer dan DNA template.

2. 23. DNA *Polymerase extension*

Pada tahap ini terjadi proses pemanjangan untai baru DNA, dimulai dari posisi primer yang telah menempel di urutan basa nukleotida DNA target akan bergerak dari ujung 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA.

Proses pemanjangan DNA yang diinginkan sesuai dengan panjang urutan basa nukleotida yang ditargetkan. Temperatur ekstensi berkisar antara 70 - 72°C.

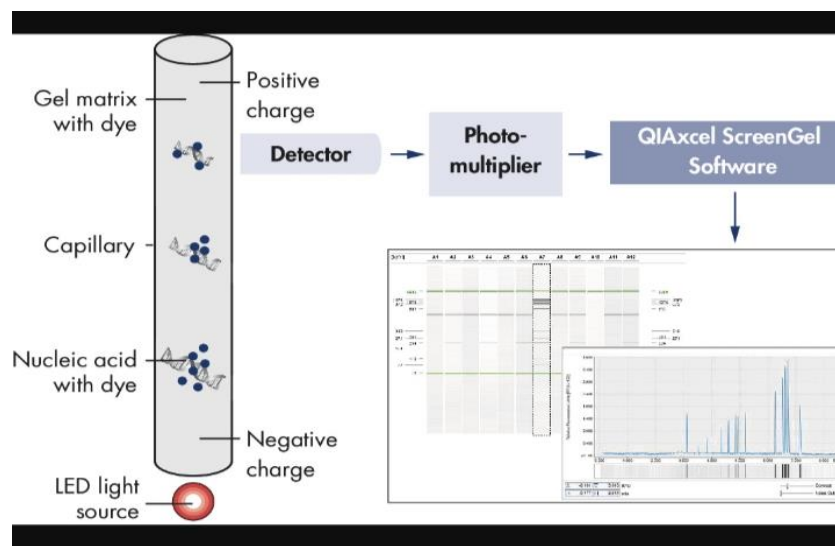


Gambar 4. Proses PCR dimulai dari proses denaturasi, *annealing*, dan ekstensi untuk membentuk *double strand* baru. Proses tersebut terjadi berulang sebanyak siklus yang telah ditentukan.

5. Elektroforesis

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarosa dialiri listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya (positif), maka molekul tersebut akan tergantung pada nisbah (rasio) muatan terhadap massanya, serta tergantung pada bentuk molekulnya. Teknik elektroforesis dapat digunakan untuk analisis DNA, RNA, maupun protein (Yuwono, 2005).

Dalam penelitian ini digunakan elektroforesis digital yaitu *Qiaxcel Advanced* menggantikan elektroforesis dengan menggunakan gel agarosa secara manual, dilengkapi dengan *array dioda* pemancar cahaya dan kolektor mikro optik. Fragmen yang diimigrasikan pada matriks gel dalam kapiler akan melewati titik eksitasi dan deteksi, kemudian sinyal ditransfer dari *photomultiplier* ke *Qiaxcel ScreenGel Software* untuk analisis data (Gambar 5).



Gambar 5. Proses elektroforesis menggunakan *Qiaxcel Advanced* (Sumber : Qiagen, 2013).

6. Sekuensing

Pembacaan sekuen DNA sebagai produk PCR menjadi penentu utama dalam biologi molekular untuk mengetahui komposisi nukleotida dan asam amino suatu gen, juga menganalisis kekerabatan dan jalur evolusinya (Albert dkk., 1994). Sekuensing DNA didasari oleh kerja metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Molekul DNA yang akan ditentukan urutan basanya (A,C,G,T) akan berperan sebagai cetakan (*template*). DNA diamplifikasi menggunakan

enzim dan bahan serupa reaksi PCR, namun ada penambahan beberapa pereaksi tertentu, sehingga proses ini dinamakan *cycle sequencing*. Enzim polimerase akan membuat rantai baru DNA salinan dari template dengan penambahan *deoxyribonucleotida Triphospat* (dNTP) sesuai urutan DNA cetaknya pada tahap ekstensi, sedangkan apabila *dideoksiribonucleotida Triphospat* (ddNTP) tertempel maka proses polimerisasi akan berhenti karena ddNTP tidak memiliki gugus 3'-OH yang seharusnya bereaksi dengan gugus 5'-P dNTP berikutnya membentuk ikatan fosfodiester.

7. Pensejajaran Runutan Nukleotida (*Alignment*)

Runutan nukleotida 18S ribosomal DNA *Ficus racemosa* dengan primer *forward* dan *reverse* dianalisis untuk mendapatkan sekuen DNA dari gen tersebut. Pensejajaran runutan nukleotida dan analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan *Maximum Likelihood* (ML) menggunakan program MEGA (Tamura dkk., 2011 dalam Dewi dkk., 2018) untuk jarak genetik, homologi dan konstruksi pohon filogenetik dilihat dari susunan asam nukleat dan asam aminonya.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian tentang “Analisis Filogenetik Tanaman Ara Daun Lebar (*Ficus racemosa*) di Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII Sebagai Alternatif Pakan Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) Taman Nasional Way Kambas” telah dilakukan pada bulan Desember 2018 - April 2019 bekerja sama dengan Suaka Rhino Sumatera, TNWK dan Rumah Konservasi Desa Labuhan Ratu VII dalam pengambilan sampel tanaman *Ficus racemosa*. Ekstraksi DNA di Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung. Penelitian ini di bawah program penelitian **Priyambodo, M.Sc dan Dra. Elly L. Rustiati, M.Sc.**

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Adapun peralatan yang digunakan untuk koleksi sampel yaitu amplop besar, plastik *ziplock*, *icebox* untuk menyimpan sampel tanaman, gunting, *tissue*, sarung tangan dan masker untuk kerja steril.

Adapun peralatan yang digunakan dalam ekstraksi yaitu tabung mikro 1,5 ml dan 2 ml untuk wadah sampel atau cairan, tip (ukuran 1 μ L, 200 μ L, 100 μ L dan 10 μ L) untuk mengambil cairan, mortar dan pestel untuk penggerusan daun, PCR UV 40 (*Scie-Plus*) untuk preparasi alat dan kerja steril, *freezer* (*Sanyo aqua*) untuk penyimpanan sampel DNA, *sentrifuge* (TOMY) untuk pemisahan lisat, *bio vortex* untuk homogenisasi, *incubator* (Biosan) untuk pemanasan sampel pada suhu tertentu. Proses uji kemurnian dan konsentrasi DNA digunakan alat *Spektrofotometer Uv Vis*. Proses amplifikasi digunakan alat *PCR machine sensoquest*. Proses elektroforesis menggunakan alat digital (*Qiaxcel Advanced*) untuk visualisasi pita DNA, dan kamera Iphone 6 untuk alat dokumentasi. Analisis data hasil sekuensing berupa digunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi X.

2. Bahan

Bahan yang digunakan di area pengambilan sampel yaitu daun segar *Ficus racemosa*, alkohol 70% untuk steril dan silika gel digunakan agar sampel daun tetap kering. Bahan yang digunakan dalam ekstraksi adalah alkohol 70%, RNase A digunakan untuk menghancurkan RNA sehingga DNA dapat digunakan secara utuh, dan *DNeasy Plant Mini Kits* (QIAGEN) Cat No. 69104 untuk ekstraksi DNA sampel. Bahan untuk amplifikasi adalah DNA hasil ekstraksi, NEXproTM ex Taq DNA Cat No. NexG-2000, Primer *Forward* dan *Reverse* 18S rDNA digunakan untuk mengawali proses replikasi DNA dengan PCR, dan ddH₂O digunakan sebagai pelarut. Bahan yang digunakan dalam elektroforesis adalah DNA teramplifikasi, *buffer* yang digunakan pada alat

Qiaxcel Advanced. Bahan yang digunakan dalam sekuensing DNA yaitu template (cetakan) DNA, primer 18S *forward* dan *reverse*, dNTP, ddNTP, dan *enzym polimerase*.

C. Prosedur Penelitian

1. Survei Pendahuluan

Teknik pengambilan sampel tanaman telah dilakukan oleh petugas SRS TNWK, Bapak Lamijo sebagai *keeper* badak sumatera dan Drh. Zulfi Arsan dan Drh. Agvinta Nilam sebagai tim medis SRS. Pengambilan sampel tanaman juga melibatkan tim peneliti Dra. Elly L. Rustiati, M.Sc, Maria Bramastri Susilo, S.Si, dan Drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc dengan dukungan surat izin pengambilan sampel Keputusan Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Nomor : SK.257/KSDAE /SET/ KSA.2 /6 /2018 atas nama **Priyambodo, M.Sc.**, dan **Dra. Elly L. Rustiati, M. Sc** dari Direktorat Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem. Adapun surat izin pengambilan sampel tanaman dari Kepala Desa Labuhan Ratu VII, TNWK dan surat izin melakukan penelitian dari UPT LTSIT Universitas Lampung. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah sampel tanaman ara daun lebar (*Ficus racemosa*) diambil dari Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII, TNWK.

2. Pengambilan Sampel *Ficus racemosa*

Pengambilan sampel tanaman dilakukan secara aseptis dengan menggunakan alat yang sudah disterilisasi. Daun diambil secukupnya pada bagian daun

muda segar dan bersih dari hama. Daun dimasukkan ke dalam amplop besar berisi silika gel dan plastik *ziplock* agar tetap kering dari udara. Sampel yang sudah dikoleksi dilakukan pengambilan gambar, dicatat identitas, dan lokasi temuan. Selanjutnya sampel disimpan pada *icebox* dan dibawa ke Laboratorium UPT LTSIT untuk disimpan pada *freezer* dengan suhu 4°C, kemudian dilakukan ekstraksi didampingi oleh Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.

3. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA mengacu pada protokol *DNeasy[®] Plant Mini Kit* dari QIAGEN, Germany Cat No. 69104.

Sebanyak 0,1 gram daun diambil dan dipotong kecil - kecil pada mortar dan pestel. Sampel ditambahkan *buffer* AP1 sebanyak 1000 µL untuk lisis secara bertahap dan dilakukan penggerusan daun sampai halus. Hasil gerusan dipindahkan ke tabung mikro 2 ml. RNase A Qiagen ditambahkan sebanyak 10 µL untuk memisahkan RNA lalu vortex sebentar. Sampel diinkubasi menggunakan *incubator biosan* selama 30 menit dengan suhu 65°C, inversi tiap 5 menit. Sampel yang telah diinkubasi, ditambahkan *buffer* P3 sebanyak 130 µL digunakan untuk penetralan sampel dan diinkubasi kembali selama 5 menit dalam es. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit. Lisat yang diperoleh dipindah ke *Qiashredder violet* untuk menyaring protein kemudian sentrifugasi kembali dengan kecepatan 13.500 rpm selama 2 menit. Lisat yang diperoleh dipindah ke tabung mikro 2 ml. Sebanyak 1,5 x

volume *buffer* AW1 ditambahkan sebagai *wash buffer* 1. Setelah itu, cairan dipindahkan 650 μL ke *tube DNeasy mini kit* untuk penyaringan DNA. Sentrifugasi 8.000 rpm dilakukan selama 1 menit dan cairan bawah dibuang. Proses ini diulang sampai cairan pada *tube* habis. Pada *tube DNeasy mini kit* yang berisi DNA, ditambahkan *buffer* AW2 sebanyak 500 μL sebagai *wash buffer* 2 lalu sentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm kembali dilakukan selama 1 menit. *Buffer* AW2 ditambahkan kembali sebanyak 500 μL dan sentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rpm dilakukan selama 2 menit. Kolom yang berisi DNA dipindah ke tabung 2 ml baru. Selanjutnya penambahan *buffer* AE sebanyak 100 μL yang digunakan sebagai pelarut. Cairan disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit. Sampel yang ada di tabung 2 ml disimpan untuk tahap selanjutnya.

4. Analisis kemurnian dan konsentrasi DNA Total

Uji kemurnian dan konsentrasi DNA digunakan *Spektrofotometer UV Vis* pada panjang gelombang (λ) 260 dan 280 nm (Darmono, 2011). Tahap pertama yang dilakukan adalah menyiapkan *submicroliter cell* dan lid 10. Tahap selanjutnya dengan meneteskan sebanyak 1 μL *buffer* AE pada *NanoPhotometerTM Pearl submicroliter cell* sebagai blanko atau referensi pengukuran. *Submicroliter cell* dan lid dibersihkan dengan *tissue* terlebih dahulu. Sampel DNA hasil ekstraksi, diteteskan sebanyak 1 μL sebagai pengukuran sampel. Kemurnian DNA ditentukan dengan menghitung rasio absorbansi pada A260 dengan A280 (Ratio A260/A280).

5. Amplifikasi

Proses amplifikasi menggunakan PCR *machine Sensoquest*. Volume reaksi tiap PCR *tube* sebanyak 20 μL dengan komponen sebagai berikut: NEXpro™ e PCR 2X *Master Mix* sebanyak 10 μL , 18s rDNA *forward* dan *reverse* Cat No. 4422303 (Tabel 1) sebanyak 0,3 μL , DNA templat sebanyak 10 μL .

Tabel 1. Sekuen primer 18S ribosomal DNA (Hoa dkk.,2011).

Sekuen	Primer
<i>Forward</i>	5' - ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT - 3'
<i>Reverse</i>	5' - GAT CCT TCC GCA GGT TCA CC -3'

Suhu optimal penempelan primer (*annealing*) yang menunjukkan pendaran pita DNA pada hasil uji elektroforesis digital dengan *QIAxcel Advanced* adalah 53°C. Pada tahap predenaturasi digunakan suhu 95°C selama 5 menit. Tahap predenaturasi dilakukan untuk memastikan rantai ganda DNA genom telah terpisah menjadi untai tunggal. Tahap kedua yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, tahap ini merupakan proses awal untuk pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Tahap ketiga yaitu penempelan primer (*annealing*) pada suhu 53°C selama 1 menit untuk pengenalan suatu primer terhadap DNA target yang memiliki pasangan basa pada suatu organisme. Tahap keempat yaitu pemanjangan (*extention*) dilakukan pada suhu 72°C selama 2 menit. Tahap *extention* merupakan tahap pemanjangan untai baru DNA. Tahap kelima yaitu post-PCR selama 5 menit pada suhu 72°C untuk

menyempurnakan tahap terakhir dan pendinginan (*cooling*) selama 10 menit pada suhu 4°C. Tahap kedua, tiga, dan empat dilakukan sebanyak 35 siklus.

6. Elektroforesis

Sampel DNA hasil PCR selanjutnya dielektroforesis secara digital menggunakan alat *Qiaxcel Advanced* dengan *DNA High Resolution Kit* dari QIAGEN. Elektroforesis digital tidak menggunakan gel agarosa melainkan menggunakan *Kit DNA QIAxcel* untuk analisis fragmen DNA secara otomatis, berisi agarosa yang sudah dikemas sehingga pita hasil elektroforesis dianalisis langsung secara digital. *Qiaxcel Advanced*, terhubung dengan komputer sehingga pita DNA dapat dilihat dengan jelas melalui perangkat lunak *ScreenGel QIAxcel*. Prosedur penggunaan elektroforesis digital ini dilakukan sesuai dengan protokol alat *Qiaxcel Advanced*.

7. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA atau pengurutan DNA berfungsi untuk menentukan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA. Urutan tersebut dikenal sebagai sekuen DNA. Sampel DNA yang kualitas dan kuantitasnya baik, akan di sekuensing menggunakan jasa IDT Korea dengan metode Sanger.

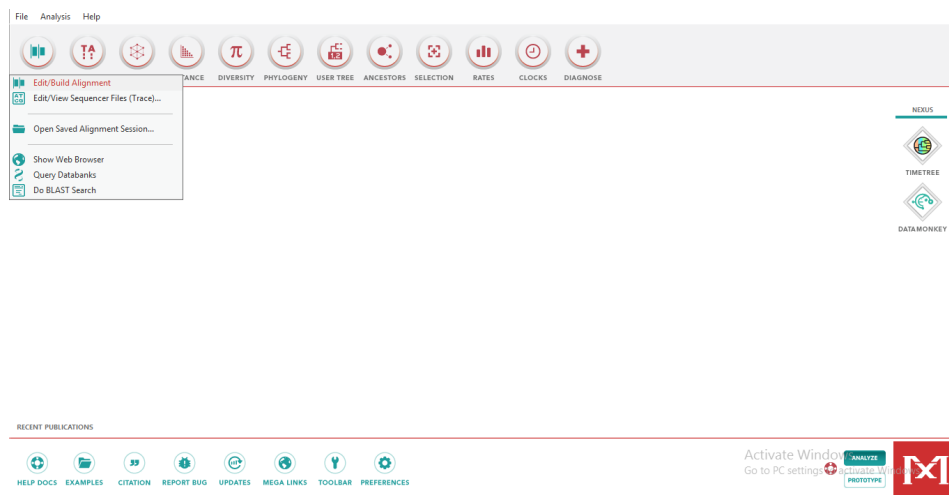
D. Analisis Data

Analisis data hasil sekuensing menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi X meliputi *multiple alignment* dengan

clustal W dan *phylogenetic tree analysis*. Konstruksi pohon filogenetik dianalisis dengan metode *Maximum Likelihood Tree* (Tamura *et al.*, 2018).

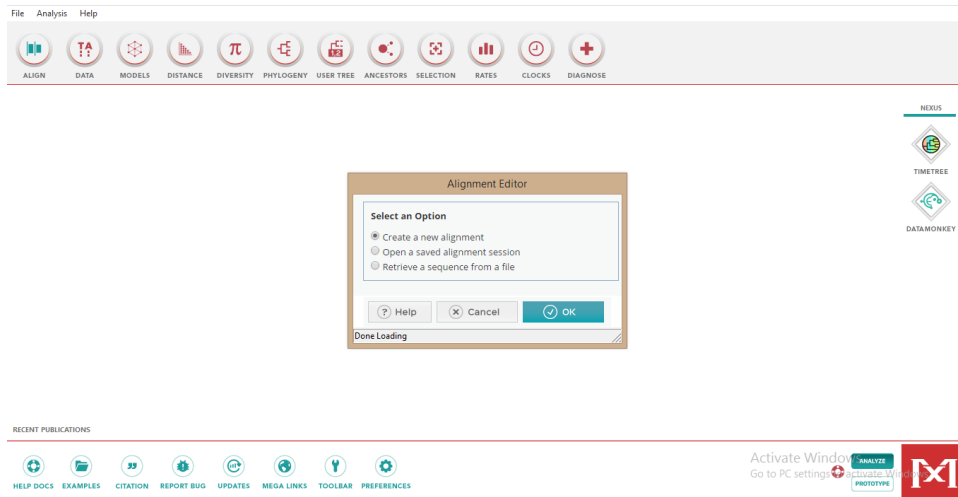
1. Merunut urutan basa nukleotida

Pada tahapan ini data hasilsekuensing berupa elektroforegram dalam bentuk AB1 *file* diubah menjadi bentuk *fasta file* (.txt) yang berisi susunan asam nukleat. Tahap pertama yaitu membuka aplikasi MEGA 10 lalu memilih opsi “Edit/Build Alignment pada menu Align (Gambar 6).



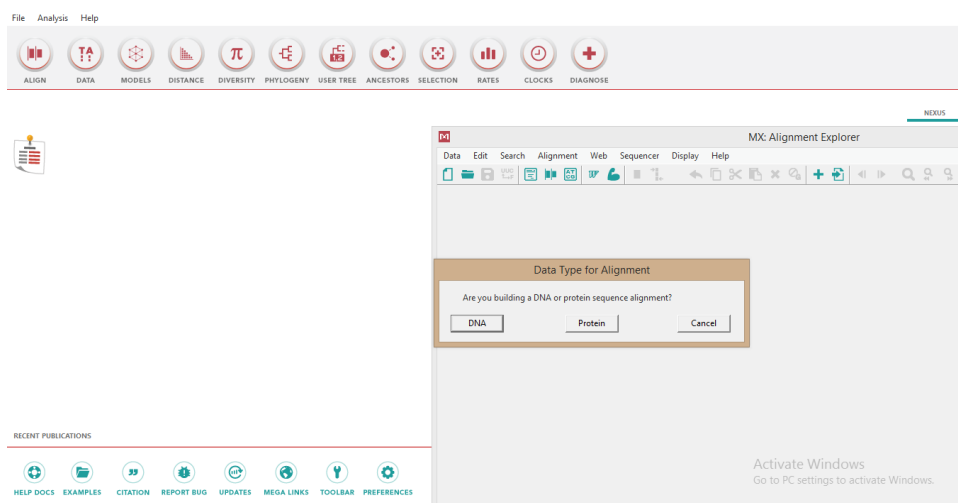
Gambar 6. Langkah pertama merunut basa nukleotida

Selanjutnya yaitu memilih opsi “Creat a new alignment” pada jendela menu Select an Option (Gambar 7).



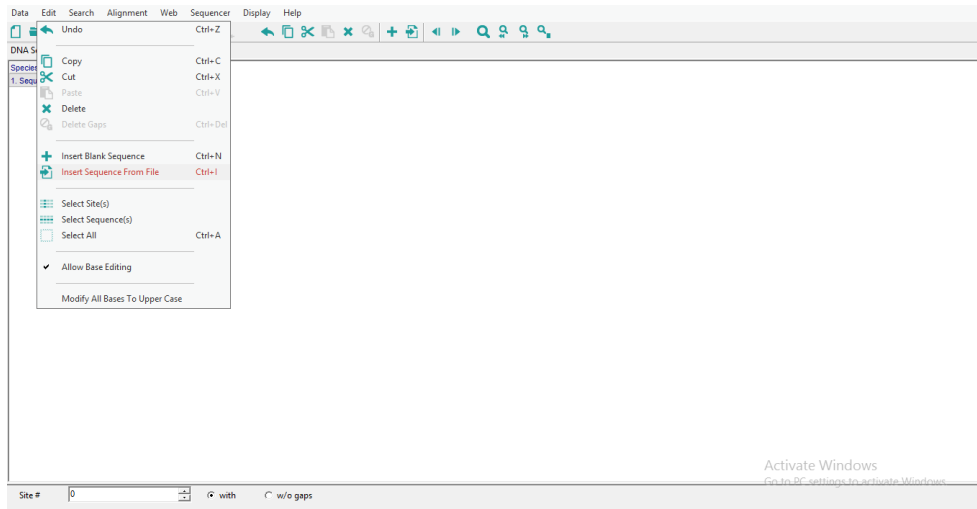
Gambar 7. Langkah kedua merunut basa nukleotida

Kemudian memilih opsi “DNA” pada jendela menu yang muncul di layar yang menunjukkan jenis sequence alignment yang dikehendaki (Gambar 8).



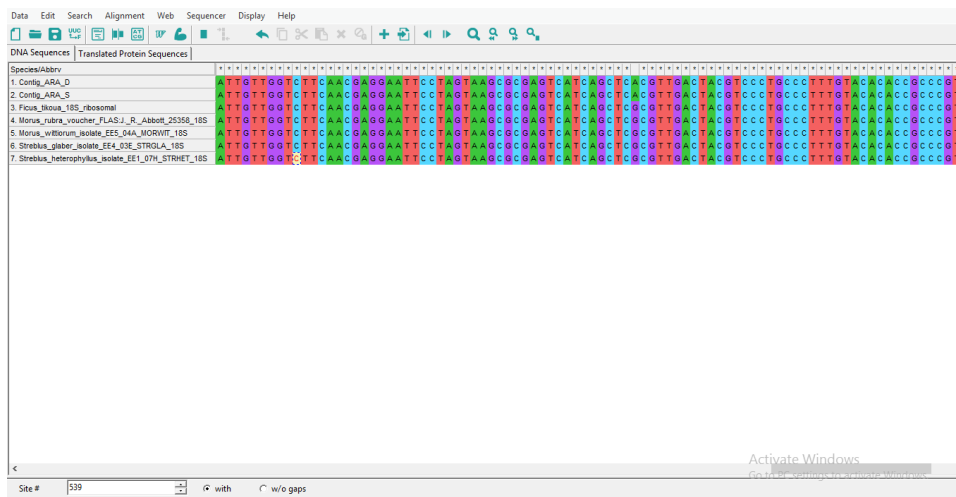
Gambar 8. Langkah ketiga merunut basa nukleotida

Tahap selanjutnya yaitu memilih opsi “Insert Sequence From File” pada menu Edit di jendela menu Alignment Explorer atau menggunakan Ctrl + I (Gambar 9).



Gambar 9. Langkah keempat merunut basa nuklotida

Data selanjutnya dilakukan uji *Basic Local Alignment Search Tools* (BLAST) untuk mencari sekuen – sekuen tanaman yang memiliki kemiripan berdasarkan gen 18s rDNA. Langkah selanjutnya yaitu memasukkan *file* hasil BLAST *Ficus racemosa* dengan tanaman lain yang masih satu famili dalam bentuk *fasta file* (.txt) dan dilakukan Align by Clustal W pada opsi “Alignment” (Gambar 10).



Gambar 10. Langkah kelima merunut basa nukleotida

Selanjutnya dilakukan penghapusan pada ujung sekuen yang berbeda. Setelah selesai, runutan disimpan pada aplikasi Notepad dengan format “>nama tanaman kemudian runutan basa nukleotida (Gambar 11).

```

File Edit Format View Help
>Contig_ARA_D
-CAATCCTGACACGGGAGGTAGTACAAATAA---TAACAATACC-----GGGCTCTACGAGCTGGTAATTGG
AATGAGTACAATCTAAATCCCTTAAC----GAGGATCCATTGGAGGCAAGTCTGGTCCGAGCAGCCGCGG-TAATT
CCAGCTCCAATAGCGTATATTA-----AGTTGTTGCAG--TTAAAAGCTGTAGTTGGACTTGGGT---T
GGGTCGATCGCTCGCCCTGCTAACTAGCTATGTGGAGCGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACTCAG
CCTGCTAACTAGCTATGCGGAGGATACCTTCGCGGCCAGCTTCTTAGAGGGACTATGGCCGCTTAGGCCAAGGAAG
TTTAGGCAANTACAGGCTCTGTAGTCCCTTAGATGTTCTGGGCCACGCGCTACACGTAGTATTCAACGAGT
CTATAGCCTTGGCCGATAGGCCCGGTAATCTTTGAATTTCACTGTGATGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTC
TTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGGAGTACAGCTACGTTGACTAGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCG
TCGCACCTACGATT

>Contig_ARA_S
-CAATCCTGACACGGGAGGTAGTACAAATAA---TAACAATACC-----GGGCTCTACGAGCTGGTAATTGG
AATGAGTACAATCTAAATCCCTTAAC----GAGGATCCATTGGAGGCAAGTCTGGTCCGAGCAGCCGCGG-TAATT
CCAGCTCCAATAGCGTATATTA-----AGTTGTTGCAG--TTAAAAGCTGTAGTTGGACTTGGGT---T
GGGTCGATCGCTCGCCCTGCTAACTAGCTATGTGGAGCGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACTCAG
CCTGCTAACTAGCTATGCGGAGGATACCTTCGCGGCCAGCTTCTTAGAGGGACTATGGCCGCTTAGGCCAAGGAAG
TTTAGGCAANTACAGGCTCTGTAGTCCCTTAGATGTTCTGGGCCACGCGCTACACGTAGTATTCAACGAGT
CTATAGCCTTGGCCGATAGGCCCGGTAATCTTTGAATTTCACTGTGATGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTC
TTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGGAGTACAGCTACGTTGACTAGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCG
TCGCACCTACGATT

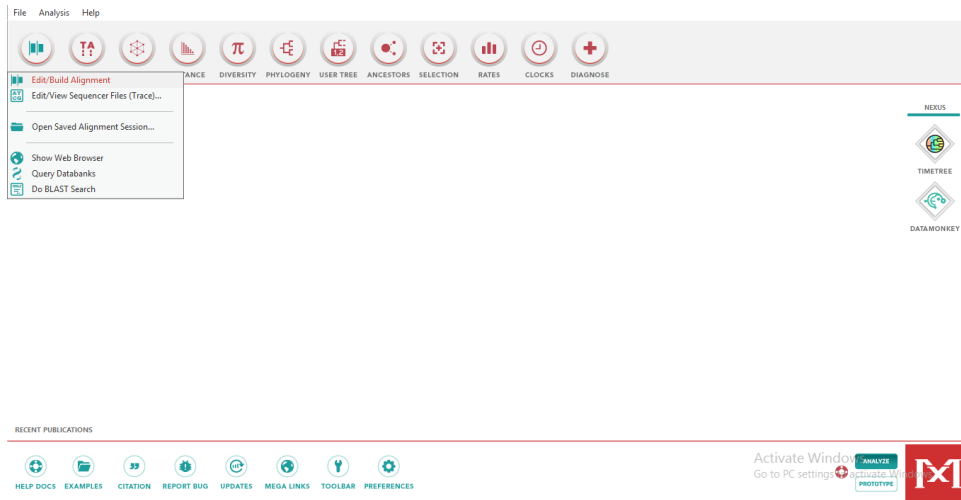
>Ficus_tikoua_18S_ribosomal
-CCGACAGGATCGCCGATGTTGCTTATAGGACTCCGCCGACCTTATGAGAANTCAAAGTTTTGGGTTCCGG
GGGAGTATGTCGCAAGCTGAACTTAAAGGATGACGGAAGGACACACAGGAGTGGAGCTCGCCGCTTAAT
TTGACTCAACCGGGAACTTACAGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGACTGAGAGCTTTTCTTGATCTAT
GGGTGGTGGTATGCGCCGTTCT- TTAGTTG- GTGGAGCGATTGTCTGGTTAATTCGGTTAACGAACGAGACTCAG
CCTGCTAACTAGCTATGCGGAGGATACCTTCGCGGCCAGCTTCTTAGAGGGACTATGGCCGCTTAGGCCAAGGAAG
TTTAGGCAANTACAGGCTCTGTAGTCCCTTAGATGTTCTGGGCCACGCGCTACACGTAGTATTCAACGAGT
CTATAGCCTTGGCCGATAGGCCCGGTAATCTTTGAATTTCACTGTGATGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTC
TTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGGAGTACAGCTACGTTGACTAGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCG
TCGCACCTACGATT

```

Gambar 11. Langkah keenam runutan basa nukleotida

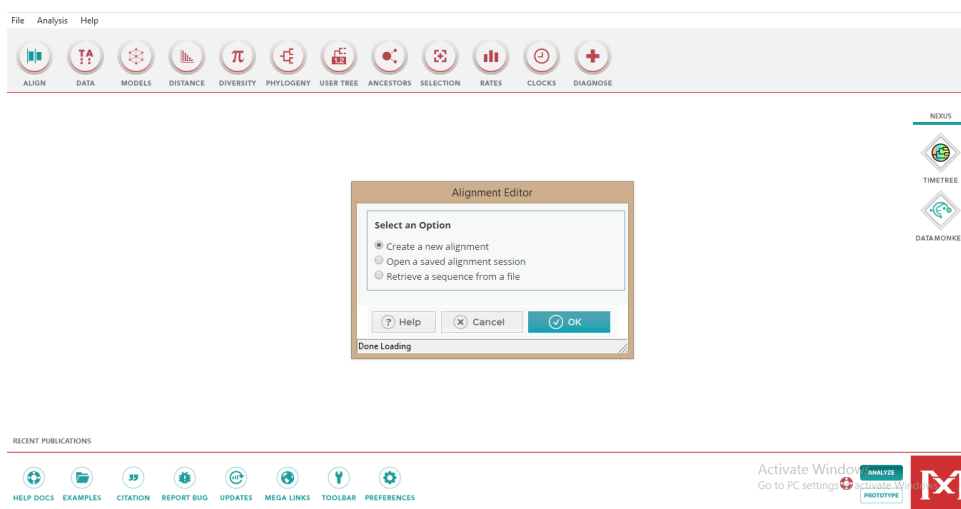
2. Analisis jarak genetik dan homologi

Pada tahap ini dilakukan analisis jarak genetik dan homologi dari hasil runutan basa nukleotida 2 pasang sekuen *Ficus racemosa* dan 5 dengan satu famili yang sama berdasarkan gen 18S rDNA. Tahap pertama yaitu membuka aplikasi MEGA 10 kemudian memilih opsi “Edit/Build Alignment” pada menu Align (Gambar 12).



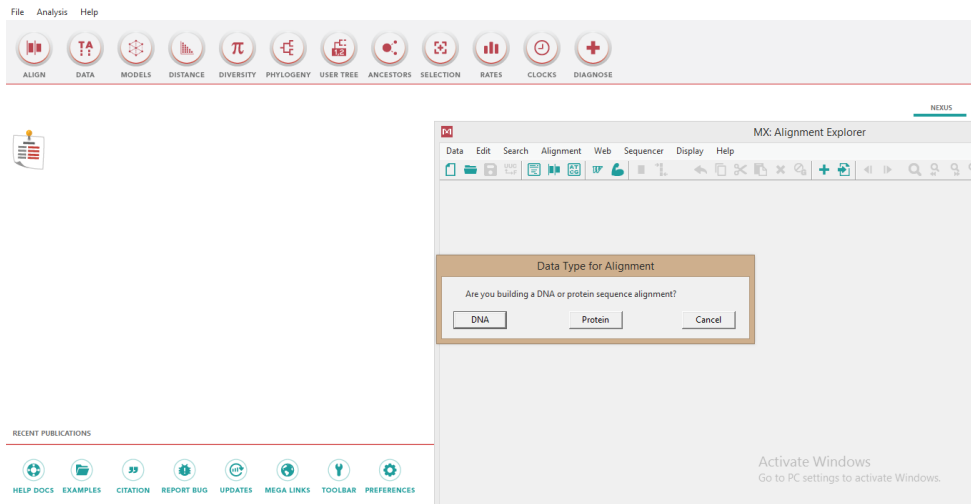
Gambar 12. Langkah pertama analisis jarak genetik

Selanjutnya yaitu memilih opsi “Create a new alignment” pada jendela menu Select an Option (Gambar 13).



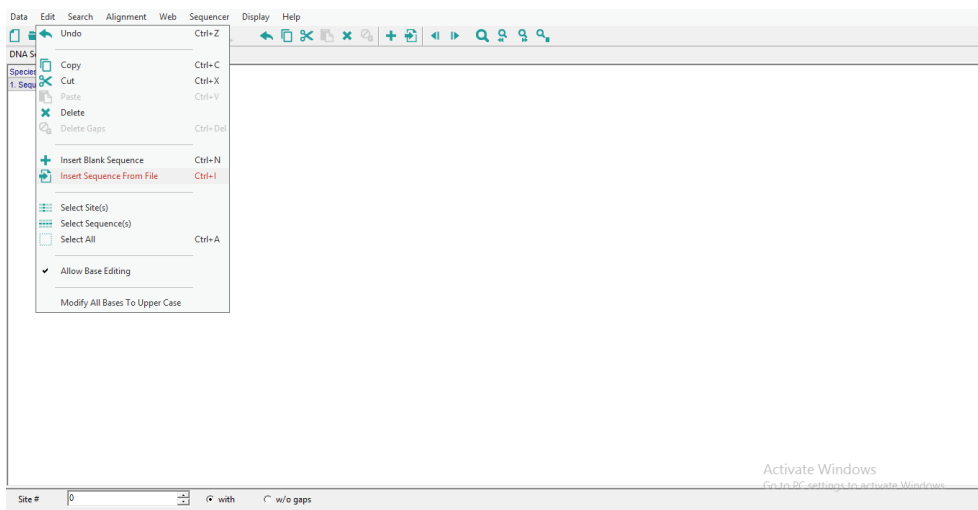
Gambar 13. Langkah kedua analisis jarak genetik

Kemudian memilih opsi “DNA” pada jendela menu yang muncul di layar yang menunjukkan jenis sequence yang dikehendaki (Gambar 14).



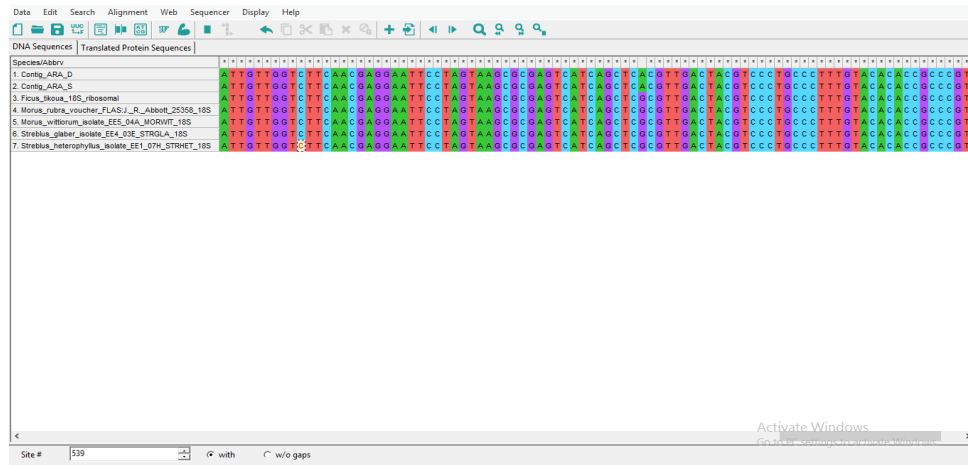
Gambar 14. Langkah ketiga analisis jarak genetik

Tahap selanjutnya yaitu memilih opsi “Insert Sequence From File” pada menu Edit atau Ctrl+I (Gambar 15).



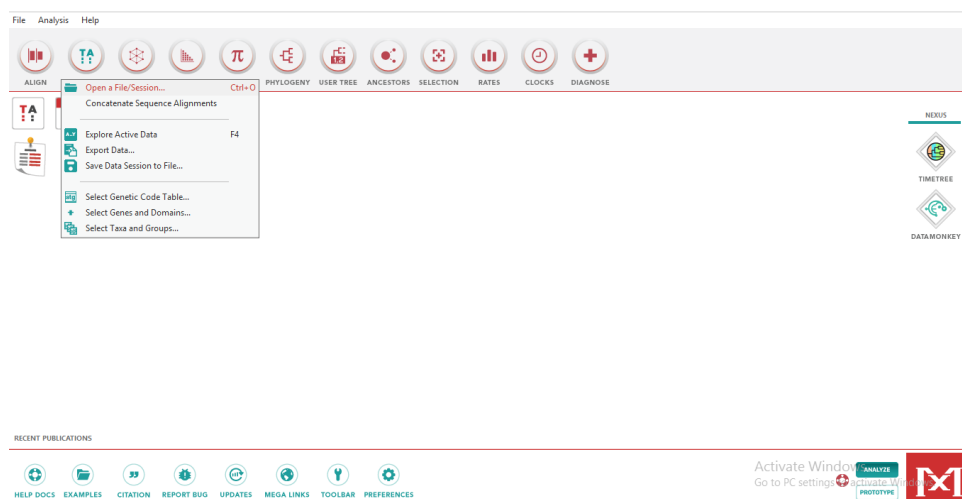
Gambar 15. Langkah keempat analisis jarak genetik

Hasil runutan yang telah disimpan pada Notepad sebagai *fasta file* (.txt) kemudian dimasukkan dan hasilnya berupa sekuen DNA akan muncul pada jendela Alignment Explorer (Gambar 16).

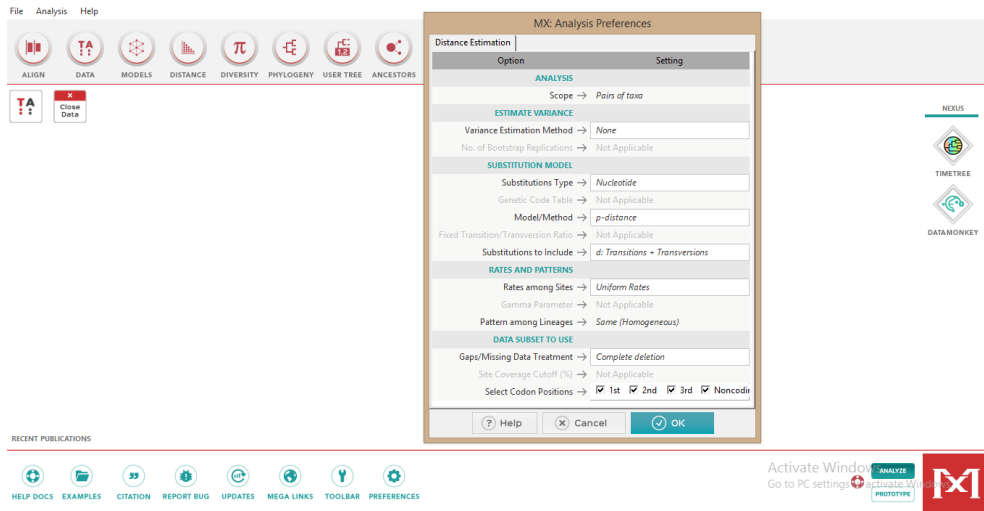


Gambar 16. Langkah kelima analisis jarak genetik

Tahap berikutnya, pada jendela utama aplikasi dipilih “Open a File/Session” pada menu Data, lalu memilih sesi *file* yang dirunut pada Alignment Explorer (Gambar 17).



Gambar 17. Langkah keenam analisis jarak genetik



Gambar 20. Langkah kesembilan analisis jarak genetik

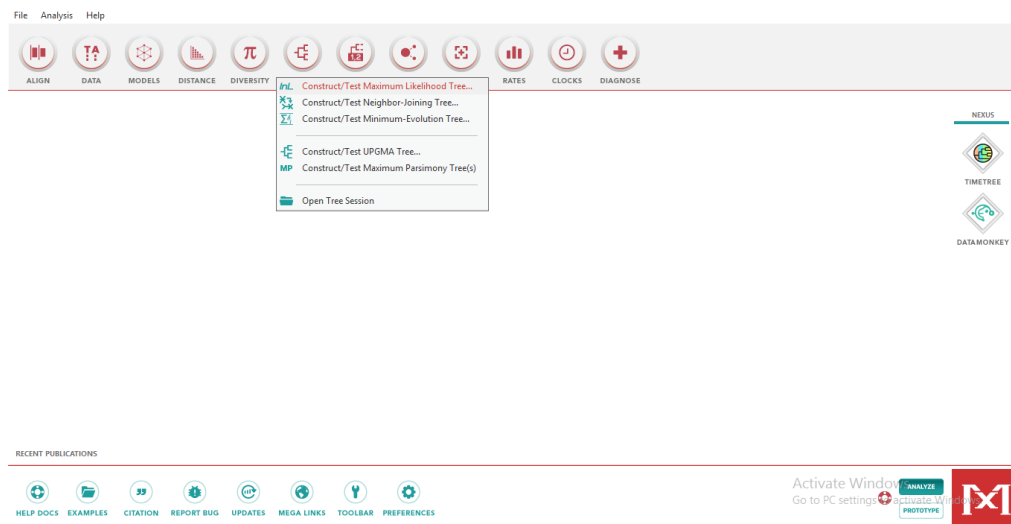
Hasilnya akan muncul jarak genetik sampel *Ficus racemosa* SRS dan Desa Labuhan Ratu VII, TNWK (Gambar 21).

	1	2	3	4	5	6	7
1. Contig_ARA_D	0.000000000						
2. Contig_ARA_S	0.000000000						
3. Ficus_tikoua_18S_ribosomal	0.2070116861	0.2070116861					
4. Morus_rubra_voucher_FLAS-J_R_Abbott_25358_18S	0.2086811352	0.2086811352	0.0050083472				
5. Morus_wittiorum_isolate_EE5_04A_MORWIT_18S	0.2086811352	0.2086811352	0.0083472454	0.0033388982			
6. Streblus_glaber_isolate_EE4_03E_STRGLA_18S	0.2103505843	0.2103505843	0.0033388982	0.0016694491	0.0050083472		
7. Streblus_heterophyllus_isolate_EE1_07H_STRHET_18S	0.2103505843	0.2103505843	0.0033388982	0.0016694491	0.0050083472	0.0000000000	

Gambar 21. Langkah kesepuluh analisis jarak genetik

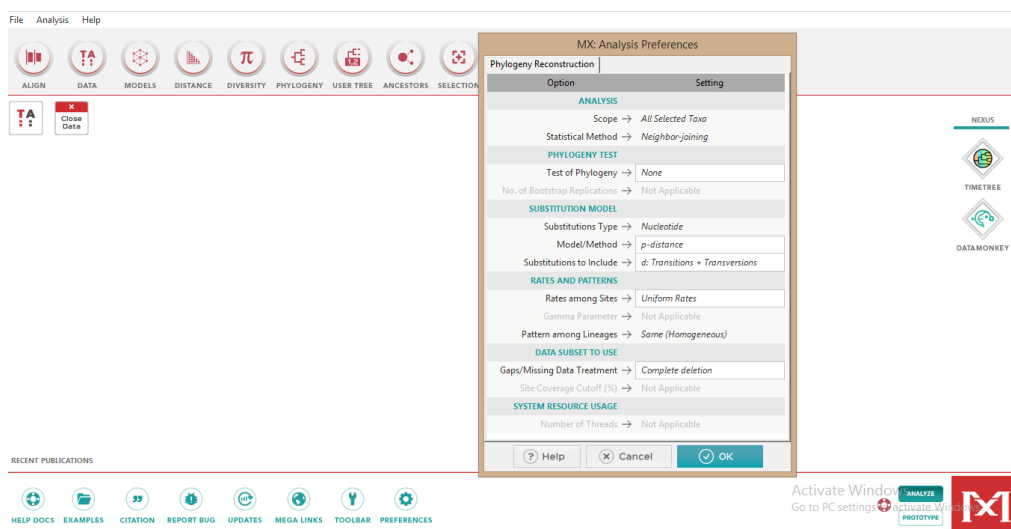
3. Membuat konstruksi pohon kekerabatan

Tahap awal yang dilakukan adalah membuka aplikasi MEGA 10 dan memilih “Construct/Test Maximum Likelihood Tree” pada menu phylogeny (Gambar 22).



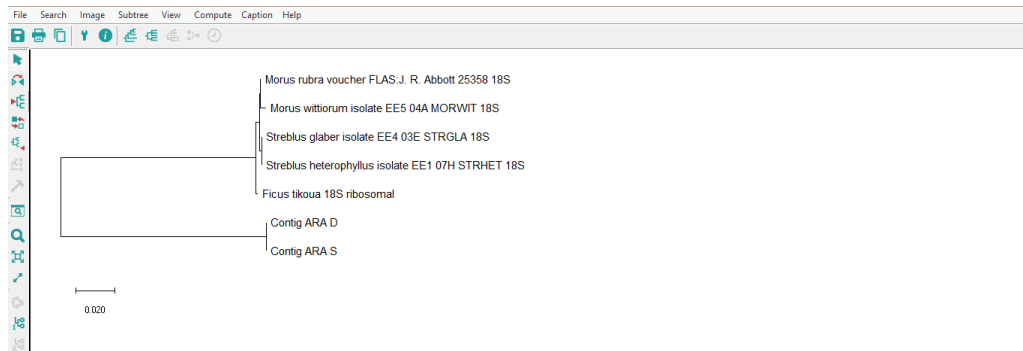
Gambar 22. Langkah pertama konstruksi pohon kekerabatan

Selanjutnya memilih opsi “OK” pada jendela menu Analysis Preferences tanpa mengubah peraturan default (Gambar 23).



Gambar 23. Langkah kedua konstruksi pohon kekerabatan

Hasilnya akan muncul konstruksi pohon kekerabatan sampel *Ficus racemosa* dengan familinya pada jendela Tree Explorer (Gambar 24).

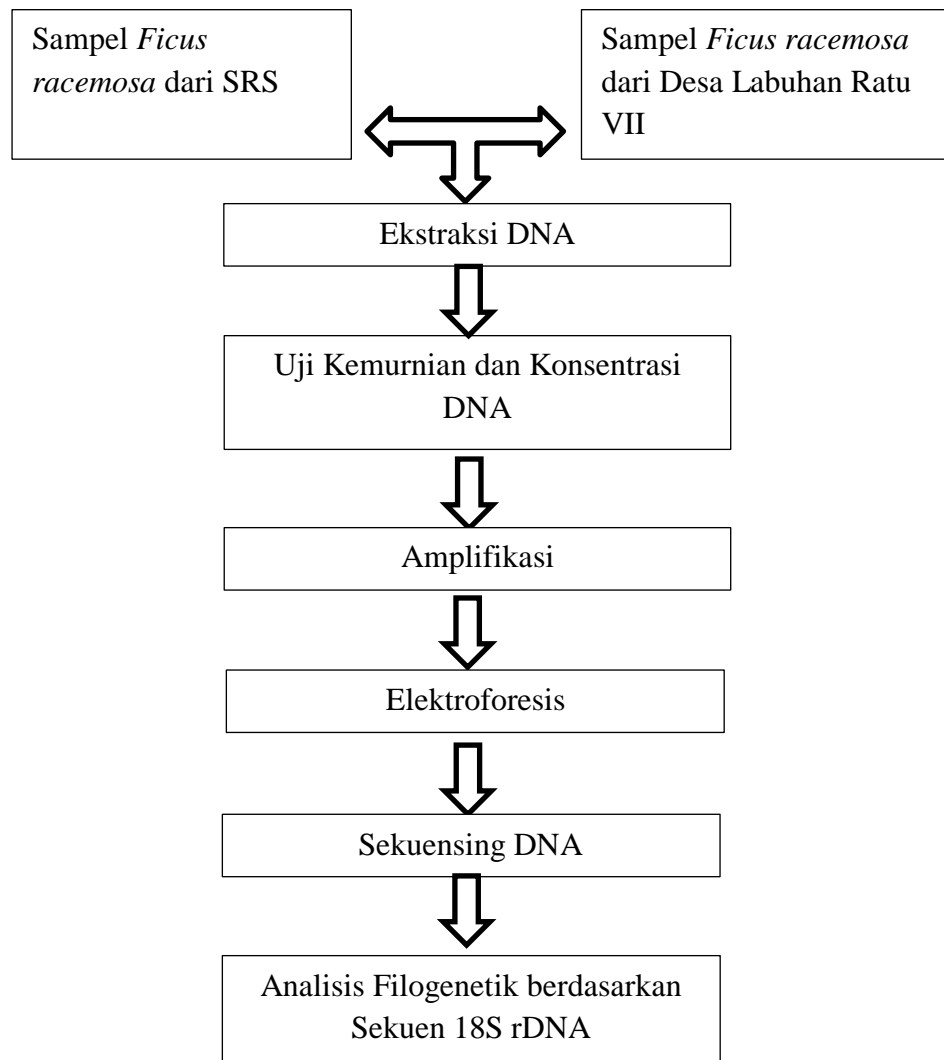


Gambar 24. Langkah ketiga konstruksi pohon kekerabatan

Selanjutnya hasil konstruksi pohon kekerabatan disimpan.

E. Diagram Alir Penelitian

Urutan pelaksanaan penelitian yang telah dilakukan ini digambarkan dalam diagram alir (Gambar 25) sebagai berikut :



Gambar 25. Diagram alir penelitian analisis filogenetik tanaman *Ficus racemosa* di Suaka Rhino Sumatera dan Desa Labuhan Ratu VII sebagai alternatif pakan badak sumatera di TNWK.

V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Penelitian diperoleh kesimpulan bahwa berdasarkan sekuen 18S rDNA, antara tanaman *Ficus racemosa* yang ada di SRS dengan yang ada di Desa Labuhan Ratu VII, TNWK merupakan spesies yang sama.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai analisis filogenetik tanaman pakan badak sumatera di Suaka Rhino Sumatera dengan jenis tumbuhan pakan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikodra, H.S., Adhi, RSH., Harini, M., Marcellus, ACTR., Sectionov, Widodo, SR., Nicolaas, JVS, Juss, R. 2012. Teknik Konservasi Badak Indonesia. Tangerang. hlm 270. ISBN 978-602-8740-30-2.
- Asiyah, S. 2017. *Uji Kualitatif DNA Gajah Sumatera (Elephas Maximus Sumatranus) di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Borges, DB., MB. Amorim, AM. Waldschmidt, E. Mariano-Neto, CV. Vivas, DG. Pereira. 2012. *Optimization of DNA extraction from fresh leaf tissues of Melanoxylon brauna (Fabaceae)*. Genet. Mol. Res. 11(2)
- Dewi, A.L., Rodiyanti, A., Hendrian. 2018. *Filogenetik Jenis – Jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non Coding Sekuen DNA*. Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology. Vol. 3. 1-7 Hlm.
- Fatchiyah. 2005. PCR: Dasar Teknik Amplifikasi DNA dan Aplikasinya. Universitas Brawijaya. Malang.
- Fatchiyah, Estri, L.A., Sri, W., dan Sri, R. 2011. *Biologi Molekular. Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta.
- Handayani, T. 2015. *Cauliflora : Tumbuhan Yang Berbunga di Batang*. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI. Bogor.
- Hoa, L.T.P., Quang, D.N., Ha, N.T.H., Tri, N.h. 2011. Isolating and Screening Mangrove Microalgae for Anticancer Activity. Research Journal of Phytochemistry. Hanoi National University of Education. Hanoi. Vietnam. 156-162 Hlm. ISSN 1819-3471.
- Irmawati. 2003. *Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu (Cromileptes altivelis) Generasi Pertama pada Stok Hatchery*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Genetik Pertanian. Bogor. 159-166 Hlm. ISSN 0853-8212.

Langga, I. F., Restu M., Kuswinanti M. 2012. *Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (Vitex cofassus) Serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik RAPD PCR*. Universitas Hasanuddin. Makassar. 265-276 Hlm. ISSN 1411 – 4674.

Mongabay. 2015. *Menanam Pakan Badak Agar Tetap Lestari*. Available at : <https://www.mongabay.co.id>. Diakses pada 03 Juli 2019, Pukul 07.00 WIB.

Nuraida, D. 2010. *Pemilihan Tanaman Kapas (Gossypium hirsutum) Sebagai Bahan Untuk Isolasi DNA*. Jurusan Pendidikan Biologi. Universitas PGRI Ronggolawe. Tuban.

Priyambodo dan Rustiati. 2016. *Rumah Konservasi Biologi Unila, Margahayu, Lampung Timur: Apresiasi Masyarakat Desa Penyangga TNWK Dalam Upaya Konservasi*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM). Universitas Lampung. ISBN 978-602-0860-12-1.

Putra, R. H. 2014. *Kajian Habitat Dan Populasi Badak Sumatera (Dicerorhinus Sumatrensis Fischer 1814) Di Kapi, Kawasan Ekosistem Leuser Propinsi Aceh*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Qiagen. 2013. *DNeasy Plant Mini Kit*. Available at : <https://www.qiagen.com>. Diakses pada 03 Juli 2019, Pukul 07.00 WIB.

Rahayu, S.E., Handayani, S. 2010. *Keragaman Genetik Pandan Asal Jawa Barat Berdasarkan Penanda Inter Simple Sequence Repeat*. Fakultas Biologi. Universitas Indonesia. Jakarta. !58-162.

Rasyid, M., Irawati, M.H., Saptasari, M. 2017. *Anatomi Daun Ficus racemosa L., (Biraeng) dan Potensinya Di Taman Nasional Bantimurung Bulusaurung*. Pendidikan Biologi. Pascasarjana Universitas Negeri Malang. 861- 866 Hlm.

Rejeki, F., Pujiyanto, S. 2013. *Optimasi Isolasi DNA Cabai (Capsicum annumL.,) Berdasar Perbedaan Kualitas dan Kuantitas Daun serta Teknik Penggerusan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Diponegoro. Semarang. 14-19 Hlm. ISSN: 1410-8801.

Rusman, D. 2016. *Prediksi Kehadiran Badak Sumatera (Dicerorhinus Sumatrensis) dan Analisis Struktur Lanskap Habitatnya di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Seprianto. 2017. *Modul Mata Kuliah Pengantar Bioinformatika*. Universitas Esa Unggul. Jakarta Barat.
- Suparmin, Purnawan, IP., Dewi, BS. 2013. *Studi Perilaku Badak Sumatera (Dicerorhinus sumatrensis Fischer, 1814) Di Suaka Rhino Sumatera Taman Nasional Way Kambas*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Waykambas. 2005. *Sejarah Taman Nasional Way Kambas*. Available at : waykambas.org. Diakses pada 25 Juli 2019 pukul 20.15 WIB.
- Yayasan Badak Indonesia [YABI]. 2015. *Badak sumatera*. Available at : <https://badak.or.id/>. Diakses 03 Juli 2019 pukul 07.00 WIB.
- Zahrah, L. N. 2018. *Isolasi Fecal Dna Badak Sumatera (Dicerorhinus Sumatrensis) di Suaka Rhino Sumatera Taman Nasional Way Kambas*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.