

**VALIDASI SPESIES MANGROVE *Rhizophora* Spp. DI DUSUN
KALANGAN BERDASARKAN CIRI MORFOLOGI DAN
*DNA BARCODING***

(Skripsi)

Oleh

**Afifah Humairoh
2114151028**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

VALIDASI SPESIES MANGROVE *Rhizophora* Spp. DI DUSUN KALANGAN BERDASARKAN CIRI MORFOLOGI DAN *DNA BARCODING*

Oleh

AFIFAH HUMAIROH

Ekosistem mangrove memiliki peran penting dalam menjaga stabilitas pesisir, menyimpan karbon, serta menyediakan habitat bagi berbagai biota. Namun, tekanan akibat alih fungsi lahan dan aktivitas wisata menyebabkan penurunan luas dan kualitas hutan mangrove, termasuk di Dusun Kalangan, Desa Pahawang, Lampung. Upaya konservasi memerlukan identifikasi spesies yang akurat sebagai dasar perencanaan rehabilitasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Rhizophora* melalui pendekatan morfologi dan *DNA barcoding*, serta menentukan marker DNA yang paling efektif dalam membedakan spesies. Karakter morfologi yang diamati meliputi panjang lamina, lebar daun, panjang tangkai, serta bentuk ujung dan pangkal daun. Hasil pengamatan menunjukkan kesesuaian parameter morfologi dengan data literatur untuk *R. apiculata*, *R. mucronata*, dan *R. stylosa*. Pendekatan molekuler dilakukan menggunakan tiga marker: ITS, *rbcL*, dan *psbA-trnH*. Hasil PCR menunjukkan bahwa marker ITS dan *psbA-trnH* berhasil diamplifikasi pada seluruh sampel, sedangkan *rbcL* gagal pada *R. apiculata*. Analisis BLAST dan konstruksi pohon filogenetik dengan metode neighbor joining (NJ) menunjukkan bahwa ITS memiliki tingkat identitas tertinggi (hingga 100%) dan menghasilkan pemisahan spesies yang lebih jelas dibandingkan marker lainnya. Oleh karena itu, marker ITS dinilai paling efektif dalam identifikasi spesies *Rhizophora*. Gabungan metode morfologi dan *DNA barcoding* terbukti meningkatkan akurasi identifikasi dan menjadi pendekatan yang relevan dalam mendukung pengelolaan serta konservasi ekosistem mangrove di wilayah pesisir.

Kata kunci : Bakau, ITS, *rbcL*, *psbA trnH*

ABSTRACT

VALIDATION OF *Rhizophora* Spp. MANGROVE SPECIES IN KALANGAN VILLAGE BASED ON CIRI MORFOLOGY AND DNA BARCODING

By

AFIFAH HUMAIROH

Mangrove ecosystems play an important role in maintaining coastal stability, storing carbon, and providing habitats for various biota. However, pressure from land use change and tourism activities has led to a decline in the area and quality of mangrove forests, including in Kalangan, Pahawang Village, Lampung. Conservation efforts require accurate species identification as a basis for rehabilitation planning. This study aims to identify *Rhizophora* species using morphological and *DNA barcoding* approaches, as well as to determine the most effective DNA markers for distinguishing species. The morphological characteristics observed include leaf blade length, leaf width, petiole length, and the shape of the leaf tip and base. The results of the observations showed that the morphological parameters were consistent with literature data for *R. apiculata*, *R. mucronata*, and *R. stylosa*. The molecular approach used three markers: ITS, *rbcL*, and *psbA-trnH*. PCR results showed that the ITS and *psbA-trnH* markers were successfully amplified in all samples, while *rbcL* failed in *R. apiculata*. BLAST analysis and phylogenetic tree construction using the neighbor joining (NJ) method showed that ITS had the highest identity level (up to 100%) and produced clearer species separation compared to other markers. Therefore, the ITS marker was considered the most effective for *Rhizophora* species identification. The combination of morphological and DNA barcoding proved to improve identification accuracy and became a relevant approach in supporting the management and conservation of mangrove ecosystems in coastal areas.

Keywords : Mangrove, ITS, *rbcL*, *psbA trnH*

**VALIDASI SPESIES MANGROVE *Rhizophora* Spp. DI DUSUN
KALANGAN BERDASARKAN CIRI MORFOLOGI DAN
*DNA BARCODING***

Oleh

Afifah Humairoh

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEHUATAN**

Pada

**Jurusan Kehutanan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **VALIDASI SPESIES MANGROVE
Rhizophora Spp. DI DUSUN KALANGAN
BERDASARKAN CIRI MORFOLOGI
DAN *DNA BARCODING***

Nama

: **Afifah Humairoh**

Nomor Pokok Mahasiswa

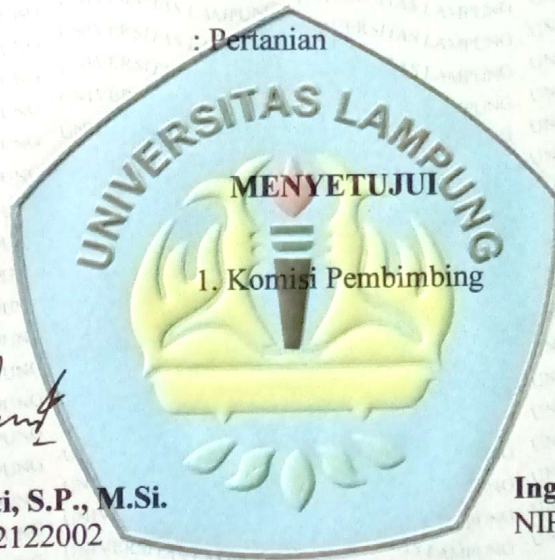
: 2114151028

Program Studi

: Kehutanan

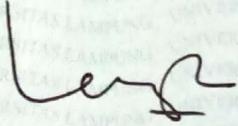
Fakultas

: Pertanian

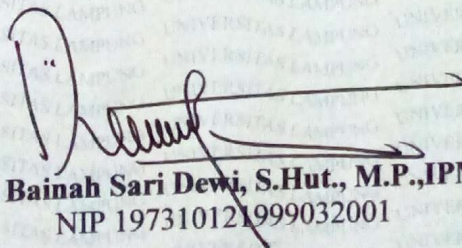


1. Komisi Pembimbing


Dr. Melya Riniarti, S.P., M.Si.
NIP 197705032002122002


Inggar Damayanti, S.Hut., M.Si.
NIP 199204212019032023

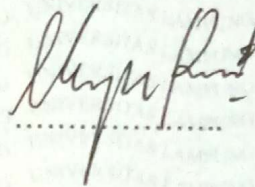
2. Ketua Jurusan Kehutanan


Dr. Bainah Sari Dewi, S.Hut., M.P., IPM.
NIP 197310121999032001

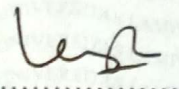
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

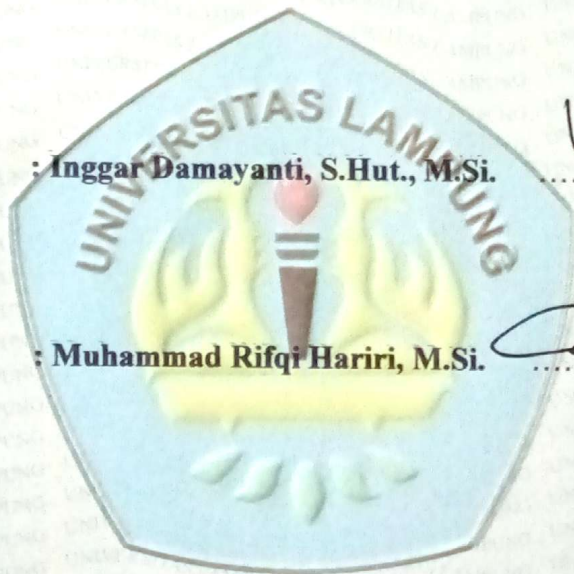
Ketua : **Dr. Melya Riniarti, S.P., M.Si.**



Sekretaris : **Inggar Damayanti, S.Hut., M.Si.**



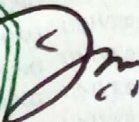
Anggota : **Muhammad Rifqi Hariri, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **24 Juni 2025**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Afifah Humairoh
NPM : 2114151028
Jurusan : Kehutanan
Alamat Rumah : Tambah Mulyo, RT 01 RW 01 Wates Timur, Kec.
Gadingrejo Kab. Pringsewu Provinsi Lampung.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sungguh-sungguh, bahwa skripsi saya yang berjudul:

**“VALIDASI SPESIES MANGROVE *Rhizophora* Spp. DI DUSUN
KALANGAN BERDASARKAN CIRI MORFOLOGI DAN
DNA BARCODING”**

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, 24 Juni 2025
Yang membuat pernyataan



Afifah Humairoh
NPM 2114151028

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Afifah Humairoh, atau akrab disapa Humai, lahir di Wates, 19 Mei 2003. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara, dari pasangan Bapak Sumani dan ibu Diana. Penulis memiliki dua orang kakak perempuan bernama Anis dan Zahra, serta dua orang adik perempuan bernama Haya dan Adzkia. Penulis menempuh pendidikan di SD Muhammadiyah Pringsewu

pada tahun 2009-2015, SMPN 1 Gadingrejo pada tahun 2015-2018, SMAN 1 Gadingrejo pada tahun 2018-2021. Tahun 2021, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi sebagai Anggota Departemen Kesekretariatan dan Rumah Tangga pada tahun 2023, dan pada tahun 2024 penulis menjadi Kepala Departemen Kesekretariatan dan Rumah Tangga di UKMU (Unit Kegiatan Mahasiswa-Universitas) Sains dan Teknologi Universitas Lampung, menjadi Anggota Himpunan Mahasiswa Kehutanan (Himasyulva) Universitas Lampung tahun 2022-2025. Pada bulan Juli-Agustus tahun 2023, penulis magang di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Kebun Raya Bogor. Selain itu, penulis pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Kimia Dasar dan Silvikultur. Pada Bulan Januari tahun 2024, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Labuhan Makmur, Kecamatan Way Serdang, Kabupaten Mesuji. Pada Bulan Juli-Agustus tahun 2024, Penulis melaksanakan kegiatan Praktik Umum Pengelolaan Hutan Lestari (PU-PHL) di Kampus Lapangan Universitas Gadjah Mada yaitu KHDTK Getas, Kecamatan Kradenan, Blora, Jawa Tengah dan Hutan Pendidikan Wanagama, Kecamatan Gunung Kidul, Jawa Tengah.

Bismillahirrahmanirrahim
“Just because it’s hard doesn’t mean it’s impossible”
Kupersembahkan karya tulis ini untuk bapak, ibu, dan saudari-saudari ku
tersayang

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat, karunia, dan hidayahNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa manusia dari zaman kebodohan ke zaman yang penuh ilmu pengetahuan. Skripsi yang berjudul “Validasi Spesies Mangrove *Rhizophora* Spp. di Dusun Kalangan Berdasarkan Ciri Morfologi dan *DNA Barcoding*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kehutanan di Universitas Lampung. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada beberapa pihak sebagai berikut:

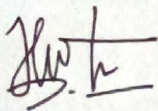
1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Dr. Bainah Sari Dewi, S.Hut., M.P., IPM. selaku Ketua Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Melya Riniarti, S.P., M.Si. selaku pembimbing utama atas yang telah membimbing, memberikan arahan, dan motivasi kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Inggar Damayanti, S.Hut., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, nasihat, dan motivasi kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak Muhammad Rifqi Hariri, M.Si. selaku penguji skripsi yang telah sabar memberikan arahan saat berada di laboratorium, kritik, saran, dan nasehat dalam proses skripsi ini.

6. Bapak Hari Kaskoyo, S.Hut, M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik yang sudah memberikan dukungan selama menempuh perkuliahan.
7. Seluruh Bapak Ibu Dosen Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat, dan pengalaman yang begitu besar saat perkuliahan di Universitas Lampung.
8. Orang tua penulis yaitu Bapak Sumani dan Ibu Diana, Kakak penulis yaitu Anis dan Zahra serta adik penulis yaitu Haya dan Adzkia yang selalu memberikan kasih sayang, doa, semangat, dukungan moral dan material kepada penulis dari awal sampai perkuliahan ini selesai.
9. Elsa, Indri, Imah, Anggun, dan Widya yang selalu memberikan bantuan, dukungan dan semangat selama perkuliahan, serta teman dekat penulis Syari, Pyara, dan Agatha yang selalu menjadi penyemangat penulis kapanpun dan dimanapun.
10. Teman-teman PP4 yang telah membantu penulis dalam pengambilan data penelitian (Andhika, Salsa, Dea, dan Anjali), serta Euis Yusniati yang telah menemani dan memberikan banyak pengalaman selama penulis berada di Bogor.
11. Saudara seperjuangan Angkatan 2021 (Laboriosa) terlebih BEDEHA grup serta keluarga besar Himasyilva Universitas Lampung.
12. Seluruh pihak yang terlibat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa disebutkan satupersatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi masih banyak kekurangan. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi pembaca.

Bandar Lampung,

Penulis,



Afifah Humairoh

DAFTAR ISI

	Halaman
SANWACANA.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	4
1.3 Kerangka Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Dusun Kalangan	7
2.2 Mangrove	8
2.3 Spesies Mangrove.....	8
2.4 <i>Rhizophora</i>	9
2.5 Identifikasi Morfologi.....	10
2.6 DNA <i>barcoding</i>	11
III. METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Prosedur Penelitian	14
3.4 Analisis Data	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Analisis morfologi	23
4.2 Analisis Molukuler <i>Rhizophora</i> melalui <i>DNA Barcoding</i>	27
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1 Simpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Alat dan bahan	13
2. Bahan PCR	17
3. Primer	18
4. Tahapan proses PCR	18
5. Hasil Data mining dari NCBI	21
6. Hasil analisis morfologi daun <i>Rhizophora</i>	24
7. Keberhasilan amplifikasi setiap marker	29
8. Kisaran panjang sekuens (bp)	31
9. Rekap kualitas sekuens.....	31
10. Kualitas sekuen	32
11. Hasil BLAST primer ITS, <i>rbcL</i> , <i>psbA trnH</i>	35
12. Jarak genetik dari sekuen ITS.....	41
13. Jarak genetik dari sekuen <i>rbcL</i>	41
14. Jarak genetik dari sekuen <i>psbA trnH</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur penelitian.	6
2. Variabel yang diukur dari morfologi daun.	15
3. Variabel yang diamati dari morfologi daun.	15
4. Perbandingan ujung daun (<i>apex</i>) <i>Rhizophora</i>	26
5. Perbandingan pangkal daun <i>Rhizophora</i>	26
6. Hasil visualisasi dari ketiga marker.	29
7. Hasil kromatogram <i>R. apiculata</i> marker <i>rbcL</i>	32
8 Pohon filogenetik sekuens ITS.	38
9. Pohon filogenetik sekuens <i>rbcL</i>	39
10. Pohon filogenetik sekuens <i>psbA trnH</i>	40
12. Dokumentasi Penelitian.	56
13. Preparasi sampel untuk PCR.	56
14. Preparasi sampel untuk elektroforesis.	57

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mangrove merupakan salah satu ekosistem langka karena hanya memiliki luas sekitar 2% dari permukaan bumi (Wijayanto *et al.*, 2022). Tercatat 40 dari 50 spesies mangrove di dunia berada di Indonesia (Pambudi dan Haryoto, 2022). Secara global, ekosistem mangrove memainkan peran penting dalam mitigasi perubahan iklim karena kemampuannya menyimpan karbon dalam jumlah besar (Sulaiman, 2023). Secara umum ekosistem mangrove memiliki peran penting dalam menghilangkan polutan dan juga diketahui sebagai tempat penyedia makanan, pemeliharaan, pemijahan, penetasan, dari organisme akuatik (Ponnambalam *et al.*, 2012). Mangrove juga berfungsi sebagai penahan gelombang dan *breakwater* (pemecah gelombang) (Zainuri dkk., 2017). Akar mangrove yang kuat dan rapat berfungsi sebagai benteng alami yang melindungi pantai dari abrasi, dan pelindung dari ancaman bencana alam, termasuk tsunami (Santoso dkk., 2019). Mangrove biasanya tumbuh dengan baik di habitat yang lembab dan berlumpur serta di daerah pesisir (Wahyudi *et al.*, 2014). Salah satu habitat mangrove yang ada di Provinsi Lampung adalah di Dusun Kalangan. Dusun Kalangan merupakan bagian dari Desa Pahawang yang berada di wilayah perairan Kabupaten Pesawaran.

Ekosistem mangrove sangat diperlukan karena pulau-pulau kecil cenderung lebih rentan terhadap perubahan lingkungan seperti kenaikan permukaan laut, badai, dan abrasi pantai (Muhammad dan Mardiatno, 2022). Keberadaan mangrove memiliki peranan yang cukup penting bagi kehidupan. Hal ini disebabkan pada ekosistem mangrove terdapat beragam jenis sumberdaya hayati yang dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia (Syaiful, 2021). Vegetasi mangrove

dapat menyaring air laut sehingga air tanah daratan memiliki kualitas dan kadar garam yang lebih rendah dan layak dikonsumsi masyarakat (Tiara, 2017).

Mangrove banyak dijumpai di kawasan tropis dengan spesies mangrove *Rhizophora* sp., *Avicennia* sp., dan *Bruguiera* sp. Jenis mangrove yang ditemukan di Dusun Kalangan antara lain *Rhizophora mucronata* dan jenis lain seperti *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora stylosa*, *Sonneratia alba*. Penelitian dari (Abubakar *et al.*, 2019) yaitu *Bruguiera gymnorrhiza*, *Rhizophora apiculata*, *R. stylosa*, *Sonneratia alba*, *Xylocarpus granatum*, *Xylocarpus moluccensis*, *Nypa fruticans* dan *Heritiera littoralis*. *Rhizophora* umumnya memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan spesies mangrove lainnya, sehingga dapat dengan cepat membentuk tegakan mangrove yang lebat (Irwan dkk, 2019).

Dusun Kalangan di Desa Pahawang yang memiliki banyak potensi tidak terlepas dari berbagai ancaman kerusakan. Faktor kerusakan terbesar di Desa Pahawang adalah perubahan lahan mangrove untuk pembangunan sarana dan prasarana wisata seperti *villa*, *cottage*, dan dermaga (Anggara dkk., 2020). Tingginya pemanfaatan sumber daya di sekitar ekosistem mangrove dapat menjadi ancaman tidak hanya terhadap kelestarian lingkungan dan ekonomi tetapi juga kehidupan sosial dan budaya (Hidayat dan Dessy., 2021). Tahun 2004-2019 diperkirakan jumlah hutan mangrove yang hilang sebesar 13,50 Ha dengan laju kerusakan 11,2% dan luas hutan mangrove yang hilang di Provinsi Lampung selama 30 tahun dari tahun 1989-2019 sebesar 83,34 Ha dengan laju kerusakan 43,7% (Dwiputra dkk., 2020).

Salah satu upaya konservatif untuk mengembalikan fungsi hutan mangrove adalah dengan melakukan kegiatan rehabilitasi ekosistem mangrove. Kegiatan rehabilitasi mangrove diperlukan guna tercapainya keberlanjutan kawasan pesisir (Surayya dkk., 2020). Identifikasi spesies mangrove merupakan langkah awal dalam upaya konservasi. Dengan mengetahui jenis-jenis mangrove yang ada, kita dapat memahami karakteristik ekologis masing-masing jenis dan merancang strategi konservasi yang lebih spesifik dan mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan (Nunez *et al.*, 2019). Kesalahan dalam identifikasi dapat mengarah

pada kebijakan konservasi yang salah arah. Contohnya jika suatu spesies yang seharusnya dilindungi dianggap sebagai spesies umum atau tidak terancam, upaya konservasi mungkin tidak dilakukan, yang dapat mengarah pada kepunahan spesies tersebut.

Identifikasi mangrove secara tradisional merupakan metode yang sederhana dan mudah dilakukan, menurut Ainiah (2020) analisis morfologi membantu dalam mengamati dan mendokumentasikan variasi bentuk dari bagian-bagian di dalam spesies, namun mudah berubah karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti faktor lingkungan dan perbedaan umur tumbuhan serta memiliki keterbatasan dalam hal akurasi (Mantang dkk, 2018). Identifikasi spesies berdasarkan morfologi memiliki beberapa kendala, yaitu pada beberapa takson hanya bisa dilakukan pada tumbuhan dewasa (berbunga), sehingga memerlukan waktu yang lama untuk pengambilan sampel dan pengamatan harus menunggu masa berbunga atau berbuah. Ada banyak variasi antar spesies yang mempunyai morfologi serupa, sulit untuk mengidentifikasi spesies mangrove tersebut. Meskipun demikian, metode ini tetap relevan dan dapat digunakan sebagai pelengkap metode identifikasi modern.

Terdapat alternatif lain dalam identifikasi spesies selain morfologi, yaitu *DNA barcoding*. *DNA barcoding* menganalisis daerah gen spesifik dan terstandarisasi dari sekuens pendek DNA (Hebert *et al.*, 2003; Hollingsworth, 2011; Liu *et al.*, 2012; Sagala, 2021). *DNA Barcode* dapat menghasilkan hasil identifikasi spesies dalam waktu yang singkat, yang lebih cepat dibandingkan metode morfologi sehingga dapat memberikan kejelasan mengenai spesies mangrove yang ada (Abdullah dkk., 2019). Metode *DNA Barcoding* telah terbukti menjadi alat penting untuk identifikasi spesies. Metode *DNA Barcoding* sejauh ini diketahui memberikan dampak yang besar dalam pengkajian keanekaragaman hayati dan keperluan analisis variasi genetik makhluk hidup di alam (Rahayu dan Jannah., 2019).

Karakteristik sekuens DNA barcode bervariasi dan dapat ditemukan pada DNA inti, mitokondria, maupun kloroplas (Balkanska *et al.*, 2020). Sekuens yang cocok

diaplikasikan untuk mangrove adalah *rbcL trnH-psbA* dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Menurut Zhang (2013) dengan menggunakan ITS sebagai gen maka amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *sequencing* dua arah lebih sempurna sehingga akan meningkatkan keberhasilan yang tinggi, serta Gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasikan.

Setelah melihat berbagai kelebihan dari *DNA Barcode*, mengidentifikasi spesies mangrove menggunakan metode morfologi masih memiliki beberapa kendala, penelitian identifikasi mangrove menggunakan *DNA Barcode* menjadi salah satu cara dalam identifikasi serta mengembangkan strategi untuk konservasi mangrove. Dengan menggabungkan kedua metode tersebut, kita dapat memperoleh hasil identifikasi spesies yang lebih akurat dan komprehensif.

1.2 Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi spesies *Rhizophora* spp. di Desa Pulau Pahawang menggunakan pendekatan morfologi dan DNA *barcoding*.
2. Mengidentifikasi marker *DNA Barcoding* yang paling baik digunakan untuk membedakan spesies dalam genus *Rhizophora*.

1.3 Kerangka Penelitian

Hutan mangrove adalah ekosistem hutan peralihan antara daratan dan lautan yang diketahui memiliki banyak manfaat (Ariftia dkk., 2014). Salah satu habitat mangrove yang terdapat di Lampung adalah di Dusun Kalangan Desa Pahawang. Ekosistem mangrove di wilayah ini memainkan peran penting dalam mendukung kestabilan pesisir. Fungsi fisik hutan mangrove di antaranya sebagai pengendali naiknya batas antara permukaan air tanah dengan permukaan air laut ke arah daratan (intrusi), sebagai kawasan penyangga, menginduksi perluasan lahan dan melindungi garis pantai dari abrasi (Mustika, 2016).

Menurut Nabila (2022) jenis vegetasi mangrove yang ada di Pahawang adalah *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora stylosa* dan *Rhizophora apiculata*.

Rhizophora mucronata diketahui memiliki sistem akar tunjang yang kokoh dan

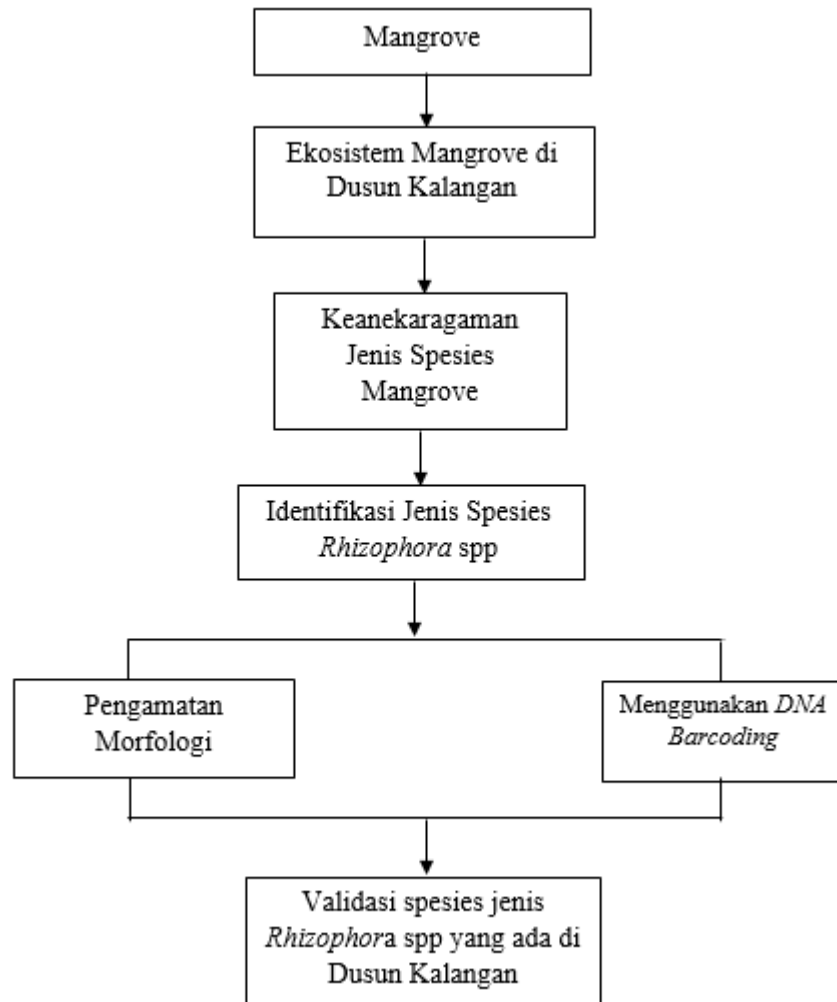
adaptif terhadap salinitas tinggi, menjadikannya spesies dominan di kawasan pesisir berlumpur. Spesies ini juga efektif dalam menyerap karbon biru (blue carbon) dan menyediakan habitat penting bagi berbagai biota akuatik (Nabila, 2022)

Keberadaan hutan mangrove sekarang ini cukup mengkhawatirkan karena ulah manusia untuk kepentingan konversi lahan sebagai tambak, pemukiman, perhotelan, ataupun tempat wisata (Rombe dkk., 2022). Salah satu upaya konservatif untuk mengembalikan fungsi hutan mangrove adalah dengan melakukan kegiatan rehabilitasi ekosistem mangrove. Upaya konservasi dimulai dari identifikasi spesies. Metode identifikasi spesies mangrove saat ini sangat beragam, mulai dari pendekatan tradisional berbasis morfologi hingga teknologi modern seperti *DNA barcoding*.

Metode analisis morfologi memungkinkan identifikasi awal berdasarkan ciri-ciri fisik seperti bentuk daun, akar tunjang, serta struktur bunga dan buah. Identifikasi jenis mangrove seringkali menghadapi tantangan, terutama untuk spesies-spesies yang masih belum teridentifikasi atau memiliki morfologi yang mirip. Namun, dengan perkembangan teknologi seperti *DNA barcoding*, identifikasi jenis mangrove dapat dilakukan dengan lebih akurat dan cepat (Lie *et al.*, 2015). Data genetik yang akurat akan membantu dalam mengklarifikasi status taksonomi spesies mangrove yang masih dipertanyakan, memperkecil kesalahan serta mengungkap adanya spesies baru atau populasi yang terisolasi (Sunaryo, 2015).

Beberapa gen target (barcode) yang umum digunakan untuk spesies mangrove antara lain *rbcL*, *trnH-psbA*, dan *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Masing-masing marker ini memiliki karakteristik unik dalam hal keberhasilan amplifikasi dan resolusi taksonomi. Penggunaan multi primer dalam metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menawarkan beberapa kelebihan yang signifikan. Salah satu manfaat utamanya adalah memungkinkan amplifikasi beberapa segmen DNA secara simultan, yang menghemat waktu dan sumber daya karena dapat dilakukan dalam satu reaksi. Penelitian ini akan menggabungkan kedua pendekatan tersebut morfologi dan *DNA barcoding* untuk memberikan pemahaman yang lebih baik

mengenai spesies *Rhizophora* spp. di Dusun Kalangan, serta untuk mendukung upaya konservasi dan pengelolaan yang lebih efektif terhadap ekosistem mangrove di wilayah tersebut. Berikut disajikan alur penelitian pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur penelitian.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dusun Kalangan

Secara administratif Desa Pahawang memiliki batas-batas wilayah yaitu sebelah Utara, Timur dan Selatan berbatasan dengan Teluk Lampung sedangkan sebelah Barat berbatasan dengan Kampung Bebangak. Desa ini terbagi menjadi 6 dusun yaitu, Suak Buah, Penggetahan, Jaralangan, Kalangan, Cukuhnyai dan Dusun Pahawang. Desa Pahawang merupakan kawasan pesisir, terdiri dari laut, pantai, rawa, daratan dan daerah perbukitan, serta termasuk bagian Desa-Desa kecil yang ada di kawasan Teluk Lampung.. Desa Pahawang berdekatan dengan Teluk Punduh Pedada yang secara spesifik terletak di 5°41'53"-5°39'02" LS dan 105°11'44"-105°14'59" BT (Hakim *et al.*, 2018). Wisata yang terkenal dan banyak menarik wisatawan, yaitu: wisata pantai, mangrove dan terumbu karang (Alfatikha dkk., 2020).

Luas hutan mangrove di Desa Pahawang secara keseluruhan mencapai 141,94 hektar (Harjono, 2010), dan sebagian besar terkonsentrasi di Dusun Kalangan dan sekitarnya. Keberadaan hutan mangrove di wilayah ini sangat penting karena berperan dalam melindungi garis pantai dari abrasi, menyediakan habitat bagi biota pesisir, serta mendukung kestabilan lingkungan dan ekonomi masyarakat setempat. Dusun Kalangan secara ekologis memiliki hutan mangrove yang tumbuh cukup lebat dan tersebar di sepanjang pesisirnya. Jenis vegetasi mangrove yang mendominasi wilayah ini berasal dari genus *Rhizophora*, seperti *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata*, dan *R. stylosa*. Keanekaragaman ini memperlihatkan pentingnya Dusun Kalangan sebagai kawasan konservasi mangrove alami.

2.2 Mangrove

Mangrove adalah vegetasi yang tumbuh pada tanah berlumpur di daerah batas pasang-surut, daerah pantai dan sekitar muara sungai (Simamora dkk., 2014). Akar mangrove memiliki bentuk yang beragam, seperti akar tunjang, akar napas, dan akar gantung, yang berfungsi untuk menopang pohon dan menyerap oksigen. Secara fisik mangrove juga berperan sebagai penahan ombak, penahan angin, pengendali angin, perangkap sedimen, dan penahan intrusi air asin, sedangkan perannya dilingkungan biota yaitu sebagai tempat persembunyian, dan tempat perkembangbiakan berbagai macam biota air. Selain itu mangrove juga dianggap sebagai penyumbang zat hara yang berguna untuk kesuburan perairan di sekitarnya (Syah, 2020). Manfaat mangrove selain ditinjau dari fungsi ekologisnya, juga diketahui memiliki nilai ekonomis yang mendorong kegiatan eksploratif, sehingga mangrove rawan terhadap kerusakan. Komposisi vegetasi mangrove terdiri dari susunan dan ukuran populasi komunitas tumbuhan. Iklim dan komposisi tanah merupakan dua faktor yang mempengaruhi vegetasi mangrove (Rosalina dan Rombe, 2021).

Mangrove dapat dijadikan objek untuk melindungi garis pantai dari erosi dan sedimentasi. Curah hujan yang meningkat secara perlahan dapat mengakibatkan bertambahnya pertumbuhan dan keanekaragaman hayati. Jika curah hujan sangat kurang, maka akan berakibat penurunan luasan kawasan mangrove secara signifikan. Selain itu, jika curah hujan rendah maka akan mengurangi produktivitas primer bersih, pembibitan, dan pertumbuhan vegetasi mangrove. Peningkatan suhu permukaan juga akan memengaruhi dinamika fenologis mangrove (Alatorre *et al.*, 2016). Mangrove berfungsi sebagai ekosistem secara ekologis yang mendukung dan menopang kehidupan laut (Roy, 2016).

2.3 Spesies Mangrove

Menurut hasil penelitian Rakhmasari (2011) tentang komposisi hutan mangrove pada tahun tanam 2001, 2002, dan 2003, jenis mangrove yang ditemukan beragam namun lebih didominasi oleh *Rhizophora mucronata* (nilai dominasi relatif 87,77%) (Swalaya dan Suryani, 2013). *Rhizophora* memiliki ketinggian pohon

mencapai 30 m dengan diameter batang mencapai 50 cm, memiliki perakaran yang khas hingga dapat mencapai 5 m, dan memiliki akar udara yang keluar dari cabang. Kulit kayu berwarna abu-abu tua dan berubah-ubah. (Nabilah dkk., 2021).

Karakteristik sedimen sangat menentukan penyebaran mangrove, dimana *Rhizophora mucronata*, *R. stylosa*, *Ceriops tagal*, *Sonneratia alba*, dan *Avicennia marina* ditemukan pada tekstur sedimen pasir. *Avicennia alba* merupakan jenis mangrove yang pohonnya tumbuh dengan ketinggian mencapai 25 meter, memiliki bentuk akar yang rumit dan perakarannya horizontal. Pada bagian batang memiliki kulit kayu yang berwarna keabu-abuan atau gelap kecoklatan, ada beberapa yang memiliki tonjolan kecil dan ada juga yang memiliki permukaan kulit yang halus. Bagian daun memiliki ciri permukaan yang halus dan mengkilat yang berada di ujung tangkai bunga. Bagian bunga bentuknya seperti trisula dengan segerombolan bunga dengan bagian kuning di sepanjang ruas tandan. Buah nya berbentuk kerucut seperti cabe warna hijau muda kekuningan. Habitat mangrove jenis ini biasanya di pinggir sungai yang mendapat pengaruh pasangsurut dan sepanjang garis pantai serta kondisi air yang asin. Persebaran *Avicennia alba* dapat ditemukan di beberapa negara seperti di seluruh Indonesia, dari India sampai Indo Cina, Filipina, Australia tropis (Shinta, 2022). Kerentanan mangrove terhadap *sea level rise*. Secara alami, ekosistem mangrove memiliki kemampuan untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan atau disebut *selfrecovery*. Namun kapasitas mangrove untuk beradaptasi beragam sesuai dengan kondisi lingkungan dan mangrove (*site specific*) serta faktor penyebab kerusakan mangrove.

2.4 *Rhizophora*

Ada tiga jenis yang tergolong dalam marga ini, yaitu *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora apiculata* dan *Rhizophora stylosa*. Berikut merupakan klasifikasi *Rhizophora*.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Myrtales
 Famili : Rhizophoraceae
 Genus : *Rhizophora*

Jenis-jenis ini dikenal dengan nama bakau, dan merupakan jenis yang umum di hutan mangrove. Pohon pohon jenis ini mudah dikenal karena bentuk perakarannya yang menyerupai jangkar, tinggi pohon dewasa dapat mencapai 30 - 40 m, batangnya besar dan daunnya selalu hijau mengkilap permukaannya (Khusni dkk., 2019).

Rhizophora mucronata merupakan jenis mangrove yang ditemukan paling dominan daripada jenis lain dengan total keseluruhannya sebanyak 238 individu. Jenis mangrove yang paling sedikit ditemukan yaitu *Rhizophora stylosa* dengan jumlah total keseluruhan sebanyak 110 individu (Nabila dkk., 2022). Adapun hasil penelitian lain yang telah dilakukan mendapatkan hasil yaitu dilokasi area konservasi Desa Pahawang memiliki 5 keanekaragaman spesies, yaitu *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora stylosa*, *Sonneratia alba*, dan *Heritiera littoralis*. Nilai spesies yang tertinggi adalah *Rhizophora stylosa* dengan nilai 8,22 m³. Vegetasi penyusun hutan mangrove yang ada di Indonesia ini tergabung dalam 37 suku tumbuhan, yang terdiri atas pohon (14 suku), perdu (4 suku), terna (5 suku), liana (3 suku), epifit (10 suku), dan parasit (1 suku) (Nabilah *et al.*, 2021).

2.5 Identifikasi Morfologi

Morfologi adalah cabang ilmu biologi yang mempelajari bentuk luar dan struktur tubuh makhluk hidup. Melalui morfologi, kita dapat mengamati, membandingkan, dan mengklasifikasikan makhluk hidup berdasarkan ciri-ciri fisiknya. Dengan memahami morfologi, kita dapat lebih memahami keanekaragaman hayati dan hubungan kekerabatan antar makhluk hidup (Anggriyani, 2024).

Identifikasi morfologi tumbuhan sendiri mempelajari bentuk luar dan struktur tubuh tumbuhan, termasuk akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji (Sasinggala, 2024). Setiap bagian tumbuhan memiliki fungsi yang spesifik dan bentuk yang beradaptasi dengan lingkungannya, bentuk daun yang lebar dan tipis pada tumbuhan di daerah tropis berfungsi untuk memaksimalkan proses fotosintesis, sedangkan bentuk daun yang sempit dan tebal pada tumbuhan di daerah gurun berfungsi untuk mengurangi penguapan air.

2.6 DNA Barcoding

Identifikasi spesies tumbuhan awalnya menggunakan metode morfologi yang diidentifikasi dari bentuk fisiknya (bunga, daun, batang, cabang dan biji). Namun, dengan adanya perkembangan teknologi elektronika dan genetika saat ini telah dikembangkan suatu metode terbaru dalam identifikasi spesies tumbuhan dan hewan, yaitu teknologi *DNA barcoding* yang menggunakan potongan DNA pendek standar (*barcode DNA*) (Herbert *et al.*, 2003). *DNA barcoding* merupakan suatu sistem yang dirancang untuk memudahkan identifikasi dan autentifikasi makhluk hidup secara cepat dan akurat karena menggunakan sekuen gen pendek dan telah terstandarisasi. *DNA Barcoding* saat ini digunakan sebagai alat yang efektif yang memungkinkan identifikasi tumbuhan secara cepat dan akurat. *DNA Barcoding* dapat digunakan untuk mengidentifikasi semua tingkatan kehidupan bahkan potongan tubuh yang tidak utuh. (Li *et al.*, 2015).

DeSalle dan Goldstein (2019) melaporkan bahwa penelitian dan analisis praktis pendekatan molekuler *DNA barcoding* telah mengalami peningkatan sejak tahun 2004 hingga 2018 yang ditandai dengan terbitnya 3.756 artikel. Metode taksonomi molekuler telah banyak digunakan untuk melengkapi pendekatan morfologi dalam identifikasi spesies dan dalam membangun hubungan filogenetik (Galan *et al.*, 2018). Untuk identifikasi tanaman dalam teknologi *DNA barcoding*, disepakati menggunakan gen pengkode standar yaitu gen ribulosa-1,5-bisfosfat karboksilase (*rbcL*) dan gen *maturaseK* (*matK*) yang terdapat pada kloroplas (CBOL Plant Working Group, 2009). Gen *matK* lebih banyak digunakan dalam berbagai penelitian dibandingkan gen *rbcL*, karena tingkat keakuratannya yang

lebih spesifik pada yaitu pada tingkat spesies (Kalangi dkk., 2014). Gen *rbcL* memiliki tingkat kemiripan yang tinggi antar-spesies dan memiliki tingkat mutasi yang rendah. Hal ini menyebabkan studi variasi genetik dan filogenetik makhluk hidup dapat dilakukan secara mendalam dengan menggunakan region gen ini (Basith, 2015).

Identifikasi molekuler pada berbagai spesies mangrove pada ekosistem mangrove di Desa pahawang belum pernah dilakukan sebelumnya. Dimana identifikasi dengan *DNA barcoding* akan mempercepat pengungkapan spesies. Penggunaan penanda molekuler seperti kode batang DNA menjadi salah satu alat dalam identifikasi jenis. Teknologi ini bersifat cepat karena hanya menggunakan potongan sekuen DNA terpendek di dalam genom (Hebert *et al.*, 2003). *DNA barcoding* diperlukan untuk memecahkan keterbatasan dari proses identifikasi spesies secara konvensional (Waldchen *et al.*, 2018). Akan tetapi, tidak berarti taksonomi konvensional menjadi tidak penting, sebaliknya *DNA barcoding* telah menjadi pendekatan (*tools*) baru seorang ahli taksonomi untuk melengkapi pengetahuan dalam proses identifikasi dengan cepat. Menggabungkan sekuen DNA dengan karakter morfologi yang ada dapat memfasilitasi identifikasi dan klasifikasi spesies (Kowalska *et al.*, 2018; Waldchen *et al.*, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2024 sampai Juni 2025. Pengambilan sampel dilaksanakan di Dusun Kalangan Desa Pahawang, Kecamatan Marga Punduh, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Pengamatan Morfologi dilakukan di Laboratorium Silvikultur, Jurusan Kehutanan, Fakultas Peranian, Universitas Lampung. Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Molekuler di Gedung PP4, yang bertempat di Kawasan Sains Teknologi Dr. (H.C) Ir. H. Soekarno Jl. Raya Bogor KM. 46, Cibinong. Proses sekuensing produk PCR dilaksanakan dengan jasa 1st Base Singapore, melalui PT. Genetika Science Indonesia. Analisis data morfologi dan molekuler akan dilakukan di Laboratorium Silvikultur, Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian meliputi kegiatan pengamatan morfologi dari herbarium, ekstraksi DNA, PCR, dan visualisasi hasil DNA. Alat dan bahan yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Alat dan bahan

Kegiatan	Alat	Bahan
Pengambilan Sampel	Gunting <i>stek</i>	Daun mangrove, Plastik (wadah untuk sampel), silica gel
Pembuatan Herbarium	Gunting, spidol, oven, sasak (alat <i>press</i>)	Koran, kertas, selotip, alkohol 70%
Pengamatan Morfologi	Mistar, kertas karton putih, kamera handphone	Herbarium tumbuhan mangrove

Tabel 1. (Lanjutan)

Kegiatan	Alat	Bahan
<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	Microtube 200 µl, Takara PCR Thermal Cyclers Dice, <i>Minicentrifuge</i> , rak <i>microtube</i> , tip 10 µl, <i>mikropipet (PhysioCare)</i> 10 µl.	ddH ₂ O (akuabides), DNA primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> (ITS17 SE dan 26 SE, <i>trnH-psbA</i> , <i>rbcL</i>), My Taq TM Master Mix 2X (Bioline), DNA.
Visualisasi Hasil PCR	Elektroforesis Mupid EXU Chamber, UV transilluminator Bio-Rad Gel Doc TM EZ Imager, neraca analitik Precisa, Erlenmeyer, <i>microwave</i> , spatula, cetakan gel <i>agarose</i> .	<i>Agarose</i> , TAE (Tris- acetate-EDTA) 1X, Gelred, <i>plastic wrap</i> , <i>DNA Ladder</i> 100 bp.

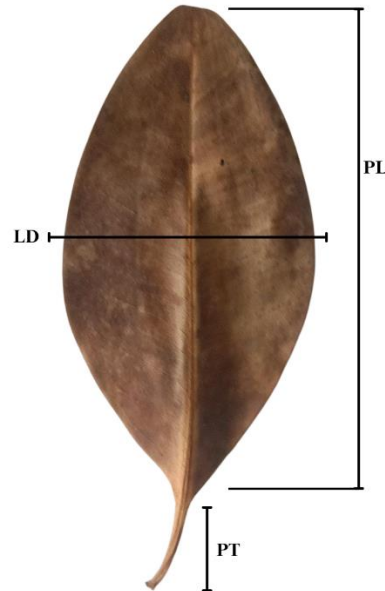
3.3 Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian meliputi pengamatan morfologi dan analisis molekuler. Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengidentifikasi karakter fisik spesies. Selanjutnya, analisis molekuler digunakan untuk mempelajari hubungan genetik antar individu atau spesies melalui analisis DNA.

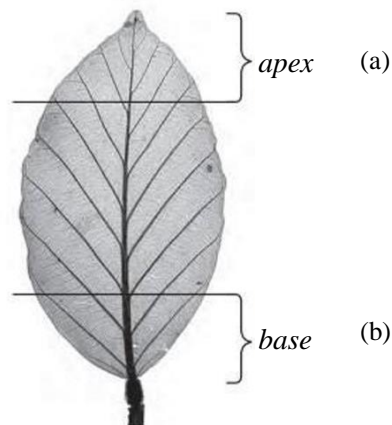
3.3.1 Pengamatan morfologi

Mangrove memiliki karakteristik morfologi yang unik sebagai bentuk adaptasi terhadap kondisi lingkungan tempat tumbuhnya (Kosso, 2022). Pengamatan morfologi yang dilakukan fokus pada bagian daun yang telah dibuat menjadi herbarium. Tahapan pembuatan herbarium yang pertama adalah menyiapkan spesimen, lalu di semprotkan alkohol 70%, tempelkan dan tutup di kertas koran, keringkan di oven selama 48 jam dengan suhu 80⁰ C, setelah itu beri label yang mencantumkan nama jenis spesies (Hafida dkk, 2020). Daun adalah organ tumbuhan yang dapat dengan mudah diamati, dan memiliki ciri khas pembeda antar spesies. Variabel yang diukur dan diamati dalam pengamatan morfologi bagian daun didasarkan pada Damayanti (2023) yaitu, panjang lamina (PL),

panjang tangkai daun (PT), lebar daun (LD), bentuk ujung daun dan pangkal daun, pengamatan morfologi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Variabel yang diukur dari morfologi daun.



Gambar 3. Variabel yang diamati dari morfologi daun.

Bagian paling atas daun disebut *apex* (ujung), yang mencakup hingga 25% dari panjang vena utama (garis tengah daun). Sedangkan bagian paling bawah daun disebut *base* (pangkal), yang mencakup 25% dari panjang vena utama. Jadi, dalam pengukuran untuk variabel ujung dan pangkal daun masing-masing sebesar 25% dari panjang daun (Ellis *et al.*, 2009).

3.3.2 Analisis molekuler

Analisis molekuler terdiri dari beberapa tahapan penting. Tahapan yang pertama yaitu pemilihan objek yang akan digunakan sebagai sampel. Setelah itu, dilakukan proses ekstraksi DNA, ekstraksi DNA menggunakan prosedur CTAB. Selanjutnya adalah tahap amplifikasi, visualisasi, dan yang terakhir sekuensing.

A. Pemilihan bagian sampel

Sampel yang diambil adalah pada bagian daun mangrove. Bagian daun dipilih karena lebih mudah diambil tanpa merusak tanaman secara signifikan serta bagian ini lebih mudah untuk diekstrak. Bagian daun yang diambil dalam kondisi sehat, tidak boleh rusak serta tidak terlalu muda maupun terlalu tua (Sunaryo, 2015). Sampel daun disimpan dalam kantong plastik yang berisi silica gel dan diberi label. Silika gel digunakan karena bersifat higroskopis, yang berarti mampu menyerap kelembaban dari daun dengan cepat. Ini membantu mengeringkan daun tanpa memerlukan panas, yang bisa merusak DNA.

B. Ekstraksi DNA

Teknik ekstraksi DNA yang tepat sangat diperlukan dalam proses pemuliaan tanaman untuk memperoleh DNA dengan kualitas dan kuantitas yang tinggi (Anissa, 2024). Sebelum sampel di PCR, sampel harus di ekstraksi terlebih dahulu. Metode yang digunakan untuk sampel *R. mucronata*, *R. apiculata*, *R. stylosa* dalam penelitian ini adalah CTAB. Menurut Abidin *et al* (2013) *Rhizophora* sp. mengandung senyawa polifenol. CTAB juga secara efektif dapat menghilangkan senyawa polifenol (Carter-House *et al.*, 2020). Saat penggerusan sampel ditambahkan pasir silika dan polivinilpolipirilidon (PVP). Penambahan PVP dalam ekstraksi akan menyebabkan polifenol yang terlepas dari sel tumbuhan berikatan dengan PVP, sehingga mencegah polifenol tersebut berikatan dengan DNA dan mengkontaminasi hasil ekstraksi.

Ekstraksi DNA mengikuti prosedur standar *Cetyltrimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) Doyle dan Doyle (1987) dan mengikuti modifikasi prosedur dari laboratorium PP4. Adapun tahapan utama isolasi DNA yaitu: 1) *lysis*

(penghancuran) dinding dan membrane sel untuk mengeluarkan inti sel. Tahap lysis dimulai dari penghancuran sampel menggunakan mortal dan pestle yang sebelumnya sampel tersebut telah dipotong kecil-kecil dan ditambahkan pasir silika serta PVP, sampel yang telah halus dimasukkan kedalam microtube, lalu ditambahkan buffer CTAB ke sampel sebanyak 1 ml, selanjutnya di vortex dan di inkubasi selama 30 menit menggunakan *heatblock* pada suhu 60°C. 2) *binding* (pengikatan) DNA agar terpisahkan dari protein lainnya. Campuran yang telah didiamkan lalu diberi Choroform:Isoamyl alcohol, dan di hula selama 10 menit. Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 7.200 rpm. Setelah disentrifugasi campuran tersebut akan terpisah, dan supernatan dipindahkan ke tube 1,5 ml. lalu ditambahkan ice-cold isopropanol sebanyak 2/3 dari volume supernatan. Lalu dimasukkan ke freezer selama 1 jam. 3) *washing* (pencucian) DNA untuk purifikasi. Setelah itu keluarkan dari freezer dan di hula selama 10 mnt dan disentrifugasi selama 10 menit dengan 10.000 rpm. Lalu supernatan dibuang dan didiamkan selama 20 menit setelah diberi wash buffer sebanyak 1 ml. selanjutnya disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan 10.000 rpm. dan 4) *elute* (pelarutan), penambahan larutan buffer TE sebanyak 100uL (Sari dan Restanto, 2022).

C. Amplifikasi

Amplifikasi sekuen DNA barcode akan dilakukan dengan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR adalah suatu teknik amplifikasi fragmen DNA secara in vitro, atau disebut juga dengan reaksi rantai polymerase (Anggereini, 2008). PCR dilakukan untuk menduplikasi sampel DNA dan menghasilkan pita DNA yang terlihat pada saat visualisasi. Bahan yang digunakan pada tahap ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan PCR

Bahan	Jumlah (μl)
ddH ₂ O	11
Primer F	2
Primer R	2
Taq polimerase	25
DNA	10
Total	50

Bahan yang digunakan untuk PCR adalah ddH₂O, Primer, *Taq polimerase*, dan DNA. ddH₂O adalah air suling ganda atau *double distilled water*. Air suling ganda merupakan jenis air murni yang dibuat dengan cara mendistilasi air sebanyak dua kali dan berfungsi sebagai pengencer atau pelarut (Suwardi dan Ranggani, 2022). Primer berperan dalam membatasi fragmen DNA target yang akan diamplifikasi. *Taq polimerase* dalam PCR diperoleh dari bakteri *Thermus aquaticus* digunakan pada tahap pemisahan (denaturasi). Primer yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3. Tahapan proses PCR disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Primer

Nama Primer	Urutan Basa	Sumber
<i>rbcL</i> F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	Kress <i>et al.</i> , 2009
<i>rbcL</i> R	GTAAAATCAAGTCCACCRCG	Kress <i>et al.</i> , 2009
ITS 17SE (forward)	ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTG TTCG	Sun <i>et al.</i> , 1994
ITS 26SE (reverse)	TAGAATTCCCCGGTTCGCTCGCCG TTAC	Sun <i>et al.</i> , 1994
<i>trnH-psbA</i> (<i>psbA</i>)	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	Kress <i>et al.</i> , 2009
<i>trnH-psbA</i> (<i>trnH</i>)	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	Kress <i>et al.</i> , 2009

Tabel 4. Tahapan proses PCR

Tahapan	Suhu (°C)	Waktu	Siklus
Denaturasi awal	94	3 menit	1
Denaturasi	94	30 detik	35
<i>Annealing</i>	58 (ITS) 52 (<i>rbcL</i>) 52 (<i>psbA trnH</i>)	30 detik	
<i>Extension</i>	72	1 menit	
<i>Post Extension</i>	72	7 menit	1

Denaturasi adalah proses pemutusan ikatan hidrogen antara basa nitrogen pada untai ganda DNA, sehingga DNA menjadi untai tunggal (Satiyarti *et al.*, 2017). Pada denaturasi digunakan suhu 94⁰ C, dengan waktu selama 3 menit untuk awal dan 30 detik untuk akhir . *Annealing* adalah proses penempelan primer (oligonukleotida pendek) pada untai tunggal DNA yang telah dipisahkan pada

tahap denaturasi, tahap ini menggunakan suhu yang berbeda-beda tiap primer yang dipakai dan menyesuaikan sampel DNA yang dipakai. Tujuannya adalah primer akan berfungsi sebagai titik awal bagi enzim DNA polymerase untuk memulai sintesis DNA baru. Extension berfungsi menentukan panjang dan jumlah salinan DNA yang dihasilkan (Kusnadi *et al.*, 2022). Post-ekstensi ini penting untuk menjaga stabilitas produk PCR dan mempersiapkan sampel untuk analisis selanjutnya.

D. Visualisasi DNA

Pada penelitian ini digunakan sampel yang sudah diolah menjadi herbarium, oleh karena itu sebelum masuk ke tahap sekuensing diperlukan tahap PCR. Menurut Staats *et al* (2013) DNA yang diekstrak dari herbarium seringkali terdegradasi dan dalam jumlah yang sangat sedikit, dan tujuan utama dari PCR adalah menggandakan urutan DNA target (amplifikasi).

Visualisasi produk PCR dilakukan melalui teknik elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% yang dibuat dari 0,6 gr agarosa dengan TAE 1X 60 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Labu ditutup dengan plastik *wrap* dan dipanaskan selama 1 menit di dalam *microwave*, sebelum dipanaskan plastik *wrap* dilubangi menggunakan tip. Larutan gel agarosa yang sudah diangkat ditambahkan pewarna gel red 0,5 µl lalu diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan gel agarosa dituangkan dalam cetakan. Gel yang sudah padat dimasukkan ke dalam alat elektroforesis yang berisi larutan buffer TAE, selanjutnya sampel DNA hasil PCR dituangkan ke dalam setiap sumur sebanyak 5 µl. Sebagai pembanding digunakan marker DNA ladder 1 kb yang diletakkan di sumuran pertama. Selanjutnya masuk ke proses elektroforesis. Elektroforesis bertujuan untuk memisahkan fragmen DNA yang dihasilkan dari proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Aviani, 2017). Proses elektroforesis dilakukan menggunakan Mupid EXU Chamber dengan tegangan 100 v selama 30 menit (Octavia *et al.*, 2021). Elektroforesis dilakukan untuk mengetahui ukuran dan bentuk dari pita DNA yang diperoleh (Afrianti *et al.*, 2023) yang kemudian akan divisualisasi menggunakan dengan sinar UV menggunakan alat Axygen gel documentation.

E. Sekuensing

Sekuening pada penelitian ini dilakukan menggunakan jasa 1st Base Singapore, melalui PT. Genetika Science. Produk hasil amplifikasi *Rhizophora* dijadikan sebagai sampel dalam reaksi sekuensing. Sekuensing DNA berguna untuk memperoleh data urutan nukleotida pada lokus gen sehingga memungkinkan untuk mengetahui kode genetik dari molekul DNA sampel *Rhizophora* (Afrianti *et al.*, 2023).

3.4 Analisis Data

3.4.1 Analisis morfologi

Data hasil pengukuran dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil pengukuran dengan membandingkan hasil pengukuran karakter daun dari spesies *Rhizophora* di Dusun Kalangan dengan data referensi dari studi literatur. Perbandingan antara data hasil penelitian dan data literatur ditampilkan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menilai kesesuaian spesies berdasarkan ciri-ciri morfologi. Data ini menjadi dasar awal dalam validasi spesies sebelum dikonfirmasi melalui pendekatan molekuler.

3.4.2 Analisis molekuler

a. Pengeditan sekuens

Tahap yang pertama dalam analisis data adalah edit sekuens. Tahap edit sekuens bertujuan meningkatkan kualitas sekuens DNA (Aqmarina, 2018). Tahapan edit ini meliputi proses pembuangan situs primer, pemotongan ujung sekuens, penggabungan antara sekuens *forward* dan *reverse*, pemeriksaan basa ambigu dan gaps karena proses sekuensing DNA tidak selalu sempurna. Bisa terjadi kesalahan dalam pembacaan basa, serta verifikasi sekuens konsesus.

b. Identifikasi dengan BLAST

Tahap yang kedua yaitu data yang sudah di edit lalu di sejajarkan (*alignment*). Proses *alignment* menggunakan MEGA XII dan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mencocokkan data sekuens sampel dengan sekuens *database* (*data mining*) yang tersedia di GenBank dari NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). *Data mining* yang akan digunakan pada tahap BLAST disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil *Data mining* dari NCBI

NO	No. Akses	Spesies	Asal
1	HQ337913.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	Indonesia
2	KX231337.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	India
3	HQ337934.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	Taiwan
4	MZ735369.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	Vietnam
5	KX231338.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	India
6	MH243991.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	India
7	KF848256.1	<i>Rhizophora x annamalayana</i>	India
8	KF848258.1	<i>Rhizophora x lamarckii</i>	India
9	HQ337955.1	<i>Rhizophora mangle</i>	Panama
10	MH243985.1	<i>Ceriops tagal</i>	india
11	MN307165.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	China
12	PQ540296.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	India
13	KM255077.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	India
14	NC_042819.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	China
15	ON757732.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	China
16	KP697362.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	India
17	OM037435.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	India
18	JX664070.1	<i>Rhizophora mangle</i>	Sri Langka
19	NC_046517.1	<i>Rhizophora x lamarckii</i>	American
20	PQ540298.1	<i>Ceriops tagal</i>	India
21	MN307165.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	China
22	MZ959046.1	<i>Rhizophora mucronata</i>	India
23	NC_057465.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	USA
24	MT129631.1	<i>Rhizophora apiculata</i>	China
25	OK636965.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	China
26	OK636964.1	<i>Rhizophora stylosa</i>	China
27	NC_046517.1	<i>Rhizophora x lamarckii</i>	USA
28	NC_061404.1	<i>Ceriops tagal</i>	USA

c. Konstruksi pohon filogeni

Tahap selanjutnya dalam analisis data ini adalah membuat pohon filogeni. Pohon filogeni merupakan diagram yang menggambarkan garis keturunan evolusi berbagai spesies, organisme, atau gen dari nenek moyang yang sama. Pohon filogeni dibangun dengan menggunakan program software *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA12) dengan metode neighbor joining (NJ) dengan model Kimura 3 parameter. Metode NJ memiliki akurasi tinggi dan asumsi yang lebih sedikit saat merekonstruksi pohon filogeni. Model Kimura 3 parameter dipilih mendapat urutan teratas pada menu *models* di MEGA12. Nilai bootstrap di atas 60% pada pohon filogeni dianggap sebagai identifikasi yang berhasil (Saddhe *et al.*, 2016).

d. Jarak genetik

Jarak genetik mempresentasikan tingkat perbedaan genomik (gen) dari suatu spesies atau populasi yang dinyatakan dalam kuantitas numerik melalui metode Kimura 3 parameter (Saddhe *et al.*, 2017). Semakin kecil jarak genetik antar dua individu, mengindikasikan terdapat hubungan kekerabatan antar spesies.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Pendekatan morfologi memberikan gambaran awal terhadap karakter pembeda antar spesies. Dimensi karakter pembeda yang digunakan yaitu ujung dan pangkal daun yang cenderung bersifat tidak plastis. Tipe ujung daun yang berbeda dari ketiga spesies yaitu *R. mucronata* menunjukkan tipe (*mucronate*). Pangkal daun pada *R. apiculata* menunjukkan tipe yang berbeda diantara ketiga spesies yaitu tumpul dan membulat (*obtusate*). Sementara identifikasi dengan molekuler menunjukkan bahwa spesimen mangrove *Rhizophora* dari Dusun Kalangan teridentifikasi sesuai hasil identifikasi morfologi dengan reteng ITS sebesar (95-100%), *rbcL* (50-65%), dan *psbA trnH* (65-75). Marker *DNA barcoding* yang disarankan untuk penelitian lanjutan mangrove *Rhizophora* adalah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Karena marker ini menunjukkan keberhasilan PCR yang konsisten pada semua spesimen, menghasilkan sekuen dengan kualitas tinggi, serta memiliki kemampuan membedakan spesies dengan akurasi tinggi pada hasil BLAST dan pohon filogenetik. Penggunaan kombinasi metode morfologi dan molekuler memberikan hasil validasi spesies yang lebih akurat.

5. Saran

Mengingat pentingnya mangrove dalam menjaga keseimbangan ekosistem pesisir, disarankan adanya pemantauan jangka panjang terhadap komposisi dan struktur komunitas *Rhizophora* di Dusun Kalangan. Informasi taksonomi yang valid dapat menjadi dasar perencanaan konservasi berbasis spesies yang lebih tepat sasaran.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Nurilmala, M., Sitaresmi, K. P. 2019. DNA mini-barcodes sebagai penanda molekuler untuk ketertelusuran label pangan berbagai produk ikan layur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1):33-40.
- Abidin, N.A.Z., Halim, N.H.A. dan Me. R. 2013. Basic study of chemical constituents in *R. species*. *The Open Conference Proc.* 2(7): 27-28
- Abubakar, S., Kadir, M. A., Wibowo, E. S., Akbar, N. 2019. Manfaat mangrove bagi peruntukan sediaan farmasitika di Desa Mamuya Kecamatan Galela Timur Kabupaten Halmahera Timur (tinjauan etnofarmakologis). *Jurnal Enggano*. 4(1): 12–25.
- Ainiah, N., Rahayu, T., Hayati, A. 2020. Analisis karakter fenotip beberapa spesies dendrobium. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 5(2): 10-16.
- Alatorre, L.C., Sánchez-carrillo, S., Miramontes-beltrán, S., Medina, R. J.,Torres-olave, M. E., Bravo, L. C., .Uc, M. 2016. Temporal changes of NDVI for qualitative environmental assessment of mangroves: Shrimp farming impact on the health decline of the arid mangroves in the Gulf of California (1990–2010). *Journal of Arid Environments*. 1(3): 98-109.
- Alfatikha, M., Herwanti, S., Febryano, I. G., Yuwono, S. B. 2020. Identifikasi jenis tanaman agroforestri untuk mendukung ketahanan pangan rumah tangga di Desa Pulau Pahawang. *Gorontalo Journal of Forestry Research*. 3(2): 55-63.
- Alongi, D. M. 2009. *The energetics of mangrove forests*. Springer. 125 hlm.
- Anggara, G. D., Febryano, I. G., Santoso, T., Darmawan, A. 2020. Faktor–faktor perubahan lahan mangrove di Pulau Pahawang. *In Prosiding Seminar Nasional Konservasi*. LPPM Universitas Lampung. 2(1): 73-77.
- Anggereini, E. 2008. Random amplified polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *Biospecies*. 1(2): 73-76.

- Anggriyani, F. C. W. 2024. Klasifikasi makhluk hidup. *MERDEKA: Jurnal Ilmiah Multidisiplin*. 1(5): 378-384.
- Anissa, R. K., Lisdiana, L., Widyayanti, A. T. 2024. Optimasi metode nested PCR untuk deteksi vibrio parahaemolyticus AHPND pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 13(1): 1-13.
- Baker, S.S. 2018. Using DNA barcoding to identify duckweed species as part of an undergraduate ecology course. *ACSSymposiumSeries*. 1276: 67-79.
- Balkanska, R., Stefanova, K., Stoikova-Grigorova, R., Ignatova, M. 2020. A preliminary assessment of trnH-psbA as DNA barcode for botanical identification of polyfl. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 26 (1): 238–242
- Basith, A. 2015. Peluang gen *rbcL* sebagai DNA barcode berbasis DNA kloroplas untuk mengungkap keanekaragaman genetik padi beras hitam (*Oryza sativa L.*) *Lokal Indonesia Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*. 1(2): 938-941.
- Carter D, Jason, Sarah U, Tania K. 2020. Fungal CTAB DNA extraction. University Ave, USA: *Protocols*. 7(1): 1-10.
- Damayanti, I. 2023. Variasi morfologi daun jenis pionir pulau (*Alstonia scholaris R. Br.*) dan macaranga (*Macaranga triloba* (Bl.) Muell. Arg.) di hutan karet Jambi. *Jurnal Belantara*. 6(2): 243-243.
- DeSalle, R., Goldstein P. 2019. Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 7(1): 1-11.
- Dwiputra, M. A., Mustofa, A., Prasetyo, B. A. 2020. Aplikasi sistem informasi geografis untuk kajian perencanaan rehabilitasi hutan mangrove di Kecamatan Punduh Pedada, Lampung. *Journal of Science and Applicative Technology*. 4(2): 67-74.
- Efryeldi, Ahmadryadi, Bintal A. 2018. Kondisi morfometrik *Rhizophora apiculata* pada kawasan dengan aktivitas antropogenik berbeda di Pesisir Timur Indragiri Hilir, Sumatera. *Asian Journal of Environment, History and Heritage*. 2(1): 113-121.
- Ewing, B., Green, P. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Research*. 8(3): 186–194.
- Fernando Z., F., Efryeldi, Aras mulyadi. 2021. Comparative morphometric *Rhizophora apiculata* flower and fruit in two areas with anthropogenic activities in West Dumai Coastal, Dumai City, Riau Province. *Jurnal Natur Indonesia*. 19(1): 23-38.

- Green, M. R., Sambrook, J. 2020. *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. In: Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press. 271 hlm.
- Hafida, S. H. N., Ariandi, A. P., Ismiyatin, L., Wulandari, D. A., Reygina, N., Setyaningsih, T., Amin, M. A. K. 2020. Pengenalan etnobotani melalui pembuatan herbarium kering di lingkungan sekolah MI Muhammadiyah Plumbon, Wonogiri. *Buletin KKN Pendidikan*. 2(2): 79-83.
- Hall BG. 2013. *Phylogenetic trees made easy: A how-to manual*. 4th ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates. 256 hlm.
- Hamzah, H., Satria, A., Amini, N. 2019. Analisis karakter morfologi daun mangrove genus *Rhizophora* di pesisir Polewali Mandar, Sulawesi Barat. *Jurnal Biologi Tropis*. 19(1): 54–61.
- Handayani, D. W., Yusro, F., Pramudji, M. 2020. Analisis morfometri daun sebagai identifikasi jenis mangrove *Rhizophora* di Teluk Pangpang, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*. 8(2): 92–98.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., DeWaard, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 270 (1512): 313- 321.
- Hidayat, A., Dessy, D. R. 2021. Deforestasi ekosistem mangrove Di Pulau Tanakeke, Sulawesi Selatan, Indonesia. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*. 13(3): 439-454.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., Little, D. P. 2011. Barcoding plants in biodiversity hotspots: Progress and challenges. *Molecular Ecology Resources*. 11(3): 377–393.
- Irwan, I., Irwansyah, I., Surachmat, A., Jamil, K., Supryady, S., Lasikada, H. 2019. Kajian kondisi dan komposisi vegetasi hutan mangrove di wilayah Pesisir Kabupaten Bone. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*. 6(1): 6-9.
- Kamarudin. 2021. Morphological structures of *Rhizophora apiculata* Blume and *Rhizophora mucronata* Lam. *Science Heritage Journal*. 5(1): 01–04.
- Karina Kalasuba , Mia Miranti , Sri Rejeki Rahayuningsih , Wahyu Safriansyah, Rizky Riscahya Pratama Syamsuri , Kindi Farabi , Dina Oktavia, Arshad Naji Alhasnawi, Febri Doni. 2023. Red mangrove (*Rhizophora stylosa* Griff.) a review of its botany, phytochemistry, pharmacological activities, and prospects. *Plants*. 12(11): 2196.

- Khusni, A. F., Hayati, N., Kusrinah, K. 2019. Karakterisasi morfologi tumbuhan mangrove di Pantai Mangkang Mangunharjo dan Desa Bedono Demak. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*. 1(2): 79-82.
- Kosso, S. M. 2022. *Studi morfologi mangrove sebagai sumber belajar pada mata kuliah struktur dan perkembangan tumbuhan di program studi pendidikan biologi IAIN Ambon*(Doctoral dissertation) IAIN Ambon.
- Kress, W.J. Erickson, D.L. 2007. A two-locus global dna barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding trn^{h-psbA} spacer region. *PLoS One*. 2(6): 508.
- Kress, W.J., Erickson, D.L., Jones, F.A., Swenson, N.G., Perez, R., Sanjurjo, O., Bermingham, E. 2009. Barcode DNA tanaman dan filogeni komunitas dari plot dinamika hutan tropis di Panama. *Proc Natl. Acad.* 106(2): 18621-18626.
- Kusnadi, J., Arumingtyas, E. L., Hakiki, H. M. 2022. *Aplikasi teknik PCR untuk autentikasi halal*. Universitas Brawijaya Press. 144 hlm.
- Lestari, P. D., Nugraha, A. T., Dewi, R. K. 2020. Karakter morfologi daun untuk identifikasi spesies mangrove di wilayah Pesisir Timur Sumatera. *Jurnal Biologi Tropis*. 18(2): 88–95.
- Li X, Yang Y, Henry RJ, Rossetto M, Wang Y, Chen S. 2015. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biol Rev*. 90(3): 157–166.
- Li, D. Z. 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that ITS should be incorporated into the core barcode for seed plants. *PNAS*. 108(49): 19641–19646.
- Mantang, W., Mantiri, F. R., Kolondam, B. J. 2018. Identifikasi tumbuhan paku air (*Azolla* sp.) secara morfologi dan molekuler dengan menggunakan gen *rbcL* (identification of water ferns (*Azolla* sp.) based on morphological traits and molecular marker using *rbcL* gene). *JURNAL BIOS LOGOS*. 8(2): 38-44.
- Meusnier, I., Singer, G. A. C., Landry, J. F., Hickey, D. A., Hebert, P. D. N., Hajibabaei, M. 2008. A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics*. 9 (1): 214.
- Muhammad, D. T. N., Mardiatno, D. 2022. Kerentanan pesisir pulau kecil (Studi kasus: Pulau Karimunjawa dan Kemujan). *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*. 6(1): 91-103.
- Muzzazinah. 2017. Metode filogenetik pada indigofera. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi*. 1(1): 25-40.

- Nabilah, R., Sitanggang, F. I. 2021. Keanekaragaman dan tipologi mangrove di area konservasi Pulau Pahawang Provinsi Lampung. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 16(1): 30-35.
- Nunez, S., Arets, E., Alkemade, R., Verwer, C., Leemans, R. 2019. Assessing the impacts of climate change on biodiversity: Is below 2 °C enough. *Climatic Change*. 154(3): 351–365.
- Pambudi, D. B., Haryoto, H. 2022. Efektivitas farmakologi senyawa aktif tumbuhan Mangrove yang hidup di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 15(1): 39-57.
- Pandey, C. N., Pandey, R. 2019. *Field guide to mangroves of gujarat. gujarat ecological education and research foundation* (GEER Foundation), India. 166 hlm.
- Pangsuma, N., Hidayat, T. 2023. The urgency of understanding taxonomy in learning biology:(urgensi pemahaman taksonomi dalam pembelajaran biologi). *BIODIK*. 9(4): 95-110.
- Ponnambalam K., L. Chokkalingam., V.Subramaniam., J. M. Ponniah. 2012. Mangrove distribution and morphology changes in the mullipallam creek, South Eastern Coast of India. *International Journal of Conservation Science*. 3 (1) :51-60
- Porebski, S., Bailey, L. G., Baum, B. R. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*. 15(1): 8-15.
- Prakoso, G. D., Suwastika, I. N. 2021. Morfologi daun sebagai parameter identifikasi genus *Rhizophora* di Mangrove Bali. *Indonesian Journal of Coastal Research*. 8(2): 67-75.
- Rahayu, D.A., dan Jannah, M. 2019. *DNA barcode hewan dan tumbuhan Indonesia*. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya, Jakarta. 165 hlm.
- Ramdhani, M. N., Firdaus, A., Reine, H. F., Supriyatna, A. 2024. Analisis morfo-anatomi daun sirih dari famili Piperaceae dan Araceae di Kampung Warung Peuteuy, Kecamatan Cicalengka. *Polygon: Jurnal Ilmu Komputer dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 2(4): 70-82.
- Reza, M., Lahay, A. F., Putra, M. G. A., Putriani, R. B. 2022. Pemberdayaan masyarakat dalam upaya pelestarian ekosistem pesisir dan hutan mangrove di Dusun Kalangan Desa Pulau Pahawang Kecamatan Marga Punduh Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung. *Jurnal Pengabdian Fakultas Pertanian Universitas Lampung*. 1(2): 401-410.

- Rombe, K. H., Arafat, Y., Surachmat, A., Andhini, F. A. 2022. Kajian vegetasi kawasan hutan mangrove Wana Tirta di Kulon Progo Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Salamata*. 3(1): 1-6.
- Rosalina, D. Rombe, K.H. 2021. Struktur dan komposisi jenis mangrove di Kabupaten Bangka Barat. *Jurnal Airaha*. 10(1): 99-108.
- Rosdayanti, H., Siregar, U. J., Siregar, I. 2019. Karakter penciri morfologi daun meranti (*Shorea spp*) pada area budidaya ex-situ KHDTK Haurbentes. *Media Konservasi*. 24(2): 207-215.
- Roy, A.K.D. 2016. Local community attitudes towards mangrove forest conservation: Lessons from Bangladesh. *Marine Policy*. 74(1):186-194
- Saddhe, A. A., Jamdade, R. A., Kumar, K. 2016. Assessment of mangroves from Goa, west coast India using DNA barcode. *SpringerPlus*. 5(1): 1554.
- Saddhe, A. A., Jamdade, R. A., Kumar, K. 2017. Evaluation of multilocus marker efficacy for delineating mangrove species of West Coast India. *PLoS One*. 12(8): 11-28.
- Saenger, P. 2002. *Mangrove ecology, silviculture and conservation*. Springer. 303 hlm.
- Sambrook, J., Russell, D. W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual (3rd ed.)*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2344 hlm.
- Santoso, D., Yamin, M., Makhrus, M. 2019. Penyuluhan tentang mitigasi bencana tsunami berbasis hutan mangrove di Desa Ketapang Raya Kecamatan Keruak Lombok Timur. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*. 1(2): 12-16.
- Santrum, M. J., Tokan, M. K., Imakulata, M. M. 2021. Estimasi indeks luas daun dan fotosintesis bersih kanopi hutan mangrove di Pantai Salupu Kecamatan Kupang Barat Kabupaten Kupang. *Haumeni Journal of Education*. 1(2): 38-43.
- Sasidharan, R., Mohideen, S., Rajendran, N. 2020. Adaptive features and ecological roles of mangrove vegetation in the context of sea level rise and salinity changes. *Journal of Coastal Conservation*. 24(4): 1-13.
- Sasinggala, M. 2024. *Morfologi Tumbuhan 1*. Selat Media. 65 hlm.
- Satiyarti, R. B., Nurmilah, N., Rosahdi, T. D. 2017. Identifikasi fragmen DNA mitokondria pada satu garis keturunan ibu dari sel epitel rongga mulut dan sel folikel akar rambut. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*. 8(1): 13-27.

- Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E., Small, R.L. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: *The tortoise and the hare III. American Journal of Botany*. 94(3): 275-288.
- Shinta, S. 2022. Identifikasi jenis mangrove pada kawasan ekosistem mangrove di Kecamatan Cijulang Kabupaten Pangandaran. *Jurnal Akuatek*. 3(1): 9-18.
- Simamora, H. P., Khairijon, K., Isda, M. N. 2014. Analisis vegetasi mangrove di ekosistem mangrove Desa Tapan Nauli I Kecamatan Tapan Nauli Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara (Doctoral dissertation) *Riau University*.
- Staats, M., Erkens, R. H. J., van de Vossenberg, B., Wieringa, J. J., Bakker, F. T. 2013. Genomic treasure troves: complete genome sequencing of herbarium and insect museum specimens. *PLoS ONE*. 8(7): 27-43.
- Sulaiman, M. 2023. Pemanfaatan hutan mangrove terhadap penanganan perubahan iklim di Pulau Wetar. *Jurnal Kelautan dan Perikanan Terapan (JKPT)*. 1(2): 67-71.
- Sunaryo, W. I. D. I. 2015. Aplikasi DNA barcoding untuk analisis keragaman genetik lai-durian (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) asal Kalimantan Timur. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(6): 1273-1277.
- Surayya, Q., Kusmana, C., Sundawati, L. 2020. Partisipasi masyarakat terhadap kegiatan rehabilitasi mangrove di Kecamatan Cantigi, Kabupaten Indramayu. *Jurnal Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan*. 17(2): 101-115.
- Syah, A. F. 2020. Penanaman mangrove sebagai upaya pencegahan abrasi di desa socah. *Jurnal Ilmiah Pangabdhi*. 6(1): 13-16.
- Syaiful I., Rizki, I. F. Q. I. 2021. Luasan vegetasi mangrove dan pengaruhnya terhadap nilai ekonomi ekosistem mangrove di Dusun Kalangan, Desa Pahawang, Kabupaten Pesawaran, Lampung. *Jurnal Sylva Lestari*. 9(3): 451-460.
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 38(7): 3022-3027.
- Takayama, K., Tateishi, Y., Murata, J., Kajita, T. 2008. Gene flow and genetic structure of mangrove species with overlapping distributions: A case study of *Rhizophora mucronata* and *R. stylosa*. *Molecular Ecology*. 17(10): 2249-2263.

- Tian, M., Yu, G., He, N., and Hou, J. 2016. Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: mechanisms and influencing factors. *Scientific Reports*. 6(1): 1- 10.
- Tiara, A. R. 2017. Pengaruh kerapatan mangrove terhadap kualitas air sumur di Desa Sidodadi Kecamatan Teluk Pandan Kabupaten Pesawaran. *Jurnal Hutan Tropis*. 5(2): 93-98.
- Wahyudi, A., Hendrarto, B., Hartoko, A. 2014. Penilaian kerentanan habitat mangrove di Kelurahan Mangunharjo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang terhadap variabel oseanografi berdasarkan metode cvi (coastal vulnerability index). *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*. 3(1): 89-98.
- Waldchen J., Rzanny M., Seeland M., Mäder P. 2018. Automated plant species identification trends and future directions. *PLoS Comput Biol*. 14(4): 1-19.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications Academic Press*. 1(2) 315–322.
- Wibowo, R. A., Sari, N. K., Ramadhani, D. 2021. Karakter morfologi mangrove genus *Rhizophora* di kawasan pesisir Lampung Selatan. *Jurnal Sylva Lestari*. 9(1): 115–123.
- Wijayanto, T. Agfianto, F. U. Najicha, and A. A. Nugroho. 2022. Land function transfer: The transformation of agriculture land to agriculture tourism sites in Polobogo, Semarang. *IOP Conf. Ser. Earth Environ*. 1114(1): 112-180.
- Wu, L., Kang, H., Zhuang, H. and Liu, C. 2010. Variations of quercus variabilis leaf traits in relation to climatic factors at regional scale. *Chin. J. Ecol*. 29(1): 2309-2316.
- Yuliana, N., Fikri, A. H. 2019. Studi morfologi genus *Rhizophora* di kawasan konservasi mangrove Lombok Timur. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 16(1): 41–50.
- Yulianur, Zulfikar, Khairil. 2016. Morfometri daun mangrove genus *Rhizophora* di pesisir Kabupaten Aceh Selatan. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Biologi*. 1(1): 11–18.
- Zainuri, A. M., Takwanto, A., Syarifuddin, A. 2017. Konservasi ekologi hutan mangrove di kecamatan mayangan Kota Probolinggo. *Jurnal Dedikasi*. 14: 01-07.