

kus_Suganda,_Vergel_Concibido
,_Budi_Irawan,_Agung_Karunia
wan.doc
by

Submission date: 29-Apr-2021 10:22PM (UTC+0700)

Submission ID: 1573445979

File name: kus_Suganda,_Vergel_Concibido,_Budi_Irawan,_Agung_Karuniawan.doc (1.79M)

Word count: 5303

Character count: 32640



KERAGAMAN FENOTIPIK BUNGA TELANG *DOUBLE PETAL* ASAL INDONESIA DAN THAILAND BERDASARKAN MORFOLOGI BUNGA *PHENOTYPIC DIVERSITY OF DOUBLE PETAL BUTTERFLY PEA FROM INDONESIA AND THAILAND BASED ON FLOWER MORPHOLOGY*

Virida Aziza¹, Trixie Almira Ulimaz², Debby Ustari³, Tarkus Suganda⁴, Vergel Concibido⁵,
Budi Irawan⁶, Agung Karuniawan^{4*}

¹Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21, Sumedang

²Program Studi Magister Manajemen Sumber Daya Hayati, Sekolah Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Jl. Dipati Ukur 35, Bandung 40133, Indonesia

³Prodi Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21, Sumedang

⁴Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21, Jatinangor, Sumedang 45363, Indonesia

⁵Sensient Colors, LLC, 2515 North Jefferson Avenue, Saint Louis, Missouri 63106, USA

⁶Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21, Sumedang

*Corresponding author: agung.karuniawan@unpad.ac.id

Naskah Diterima: 5 Mei 2020; Direvisi: 10 November 2020; Disetujui: 23 Januari 2021

Abstrak

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman legum yang bagian bunganya telah banyak dimanfaatkan. *Double petal* adalah salah satu varian spesies bunga telang yang banyak ditemukan di Asia Tenggara. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keragaman fenotipik plasma nutfah bunga telang *double petal* asal Indonesia (Bali, Jawa Barat, dan Jawa Timur) dan Thailand berdasarkan morfologi bunga. Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga ulangan. Data morfologi dianalisis menggunakan analisis multivariat berupa Analisis Komponen Utama (*Principal Component Analysis*) dan Analisis Kluster (*Cluster Analysis*) dengan bantuan program NTSYS 2.1. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lima komponen utama yang berpengaruh terhadap keragaman aksesi dengan persentase keragaman kumulatif 88,82%. Karakter tipe bunga, susunan mahkota bunga, keberadaan lunas, tipe benang sari, dan posisi kepala putik memberi pengaruh terbesar terhadap keragaman aksesi. Analisis kluster membagi aksesi-aksesi tersebut menjadi dua kluster dengan koefisien ketidakmiripan 3,01–6,83. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand memiliki keragaman yang luas dan kekerabatan yang jauh; aksesi asal Bali memiliki morfologi bunga dan kluster yang berbeda dengan aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur dan Thailand. Informasi ini akan bermanfaat dalam merencanakan pengelolaan plasma nutfah dan pemuliaan bunga telang *double petal*.

Kata kunci: Bunga telang; *Double petal*; Keragaman fenotipik; Morfologi bunga

Abstract

Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) is a legume-plant of which flower parts are widely used. One of butterfly pea variant is double petal which commonly found in Southern Asia. This study aimed to evaluate phenotypic diversity of double petal butterfly pea germplasm from Indonesia (Bali, West Java, and East Java) and Thailand based on flower morphology. The experiment was arranged in randomized complete blocks design with three replications. Morphology data were subjected to multivariate analysis using Principal Component Analysis and Cluster Analysis and performed by NTSYS 2.1. The result showed that there were five significant principal components that cumulatively explained 88.82% of variance. Existence of keel, aestivation type, position of stigma, type of stamen, and flower type gave high contributions to the diversity of accessions. Cluster analysis grouped the accessions into two clusters with dissimilarity coefficient from 3.01–6.83. From the results, it can be concluded that double petal butterfly pea from Indonesia and Thailand have wide diversity and genetic relationship; the accessions from Bali have different flower morphology and cluster compared to the accessions from East Java, West Java, and Thailand. The information will help planning management of the germplasm and breeding double petal butterfly pea.

Keywords: Butterfly pea; Double petal; Flower morphology; Phenotypic diversity

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v14i1.15558>

PENDAHULUAN

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili *Leguminosae*. Menurut Fantz (1977) tanaman ini pertama kali ditemukan di Maluku, Indonesia. Istilah *ternatea* diambil dari nama Pulau Ternate, Maluku. Tanaman eksotis ini sering ditemukan tumbuh liar ataupun budi daya di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Hingga kini, bunga telang telah tersebar luas hingga Amerika, Afrika, Australia, Cina, dan India. Bunga telang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat, pewarna, pangan, dan pakan. Tanaman ini dapat digunakan sebagai obat untuk infeksi mata, gangguan telinga, gangguan kulit, gangguan tenggorokan, dan tumor (Ramaswamy, Varghese, & Simon, 2011; Gollen, Mehla, & Gupta, 2018). Salah satu bagian tanaman ini, yaitu bunga banyak dimanfaatkan sebagai pewarna alami makanan di berbagai negara (Zussiva, Laurent, & Budiyati, 2012; Mastuti, Fristianingrum, & Andika, 2013). Hal ini karena adanya kandungan antosianin yang menghasilkan warna biru (Suebkhampet & Sotthibandhu, 2012). Selain itu, tanaman ini juga dimanfaatkan sebagai pakan ternak (Sutedi, 2013; Morsy & Awadalla, 2017) dan fungsida (Mensah, Leach, Young, Watts, & Glennie, 2015; Suganda & Adhi, 2017). Oleh karena itu, tanaman bunga telang menunjukkan memiliki potensi untuk dikembangkan.

Bagian tanaman bunga telang yang sedang dikembangkan adalah bunga. Tanaman bunga telang pada umumnya (*single petal*) memiliki 5 *petal*, yaitu 1 bendera, 2 lunas, dan 2 sayap yang tersusun zigomorfik. Bunga pada tanaman bunga telang yang memiliki modifikasi pada ukuran lunas dan sayap disebut *double petal*. Bunga telang *double petal* dapat memiliki 1–4 *petal* (selain bendera) termodifikasi. Bagian bunga *double petal* memiliki karakter bunga berbeda dengan bunga telang *single petal*. Bunga *single petal* memiliki bunga *papilionaceous* (berbentuk kupu-kupu) dengan tipe benang sari *diadelphous*, sedangkan bunga *double petal* tidak memiliki bunga *papilionaceous* dan memiliki 10 benang sari yang bebas. Selain itu, terdapat varian bunga telang *double petal*

lainnya dengan karakter benang sari *subpolyadelphe*, yaitu peralihan antara benang sari *diadelphous* dan bebas. Adanya perbedaan bunga dari bunga telang *double petal* dengan bunga telang *single petal* disebabkan oleh mutasi gen dominan (Sen & Krishnan, 1961). Namun, tanaman *double petal* memiliki karakter fertilitas serbuk sari yang rendah dan sulit membentuk polong. Saroja (1961) mengungkapkan bahwa bunga telang *double petal* memiliki fertilitas serbuk sari yang rendah dibandingkan dengan bunga telang *single petal*. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan morfologi bunga *double petal* dibandingkan bunga telang pada umumnya.

Karakter morfologi bunga telang dapat dijadikan acuan untuk mengetahui keragaman dan kekerabatan tanaman dalam tahap pemuliaan dasar. Menurut Acquah (2012) karakter morfologi sering digunakan dalam karakterisasi dasar untuk mengetahui keragaman genetik. Fenotipe merupakan penampilan karakter hasil perpaduan genetik, lingkungan, dan interaksi antara genetik dan lingkungan. Fenotipe tanaman yang diamati dapat dibagi menjadi dua karakter, yaitu karakter kuantitatif (dapat diukur) dan karakter kualitatif (tidak dapat diukur). Informasi fenotipe dapat dianalisis menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) dan analisis kluster untuk mendapat informasi keragaman dan kekerabatan dari populasi yang tersedia. PCA digunakan untuk mengetahui kontribusi tiap karakter dan membantu menentukan karakter yang paling berpengaruh terhadap keragaman. Analisis kluster menggunakan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) digunakan untuk mengetahui kekerabatan dalam populasi.

Plasma nutfah bunga telang *double petal* banyak ditemukan di Asia Tenggara. Beberapa daerah yang dilaporkan memiliki plasma nutfah bunga telang *double petal* antara lain adalah Indonesia dan Thailand (Fantz, 1977). Havananda dan Luengwilai (2019) menguji keragaman 43 aksesi bunga telang (di antaranya adalah 6 aksesi *double petal* asal Thailand) berdasarkan aktivitas antioksidan dan zat fitokimia dalam bunga. Bodhipadma et

al. (2017) mengevaluasi benang sari dan peranan mikrospora dalam embriogenesis bunga telang *double petal* asal Thailand secara *in vitro*. Namun, selain studi-studi tersebut, belum ditemukan informasi lain mengenai morfologi bunga dari bunga telang *double petal* terutama untuk plasma nutfah asal Indonesia dan Thailand. Oleh karena itu, studi morfologi bunga perlu dilakukan untuk pengembangan plasma nutfah.

Deskripsi morfologi bunga dan informasi keragaman fenotipik aksesi bunga telang *double petal* belum tersedia secara lengkap, khususnya aksesi asal Indonesia. Saat ini, Universitas Padjadjaran memiliki koleksi plasma nutfah hasil eksplorasi dari berbagai daerah di Indonesia, antara lain Bali, Jawa Barat, Jawa Timur, serta koleksi asal Thailand. Karakter-karakter morfologi dapat digunakan untuk mengidentifikasi tiap plasma nutfah dalam kegiatan karakterisasi dasar. Informasi karakterisasi dapat digunakan untuk mengetahui keragaman fenotipik plasma nutfah yang ada. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi keragaman fenotipik plasma nutfah bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand berdasarkan karakter morfologi bunga. Hasil studi keragaman ini diharapkan dapat membantu memaksimalkan potensi bunga telang *double petal* serta

menjadi referensi dalam menentukan teknik pemuliaan tanaman yang dapat dilakukan selanjutnya.

MATERIAL DAN METODE

Waktu dan Lokasi

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2019 hingga Maret 2020. Penelitian dilaksanakan di dua tempat, yaitu di Kebun Percobaan Ciparanje Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran (koordinat S 6°55'1.55604" E 107°46'17.46012" dan ketinggian ±750 mdpl) serta di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi, FMIPA Universitas Padjadjaran.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan berupa 12 aksesi bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand (Tabel 1). Berdasarkan kaidah Statistika Pertanian (Petersen, 1994) jumlah ulangan yang diperlukan sebanyak 3 ulangan sehingga didapat 36 blok percobaan. Setiap blok percobaan ditanami 5 tanaman. Jumlah sampel yang diambil dari tiap blok percobaan adalah sebanyak 3 tanaman dan diambil 3 sampel bunga dari tiap tanaman.

Tabel 1. Daftar 12 aksesi plasma nutfah bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand

Aksesi	Asal	Jumlah petal per bunga
CT8.1	Thailand	5 petal
CT8.2	Thailand	5 petal
CT8.3	Thailand	5 petal
CT12.2	Bali	5 petal
CT12.3	Bali	3 petal
CT12.4	Bali	3 petal
CT12.5	Bali	4 petal
CT12.6	Bali	5 petal
CT12.7	Bali	3 petal
CT22	Jawa Barat	5 petal
CT24.1	Jawa Timur	5 petal
CT24.2	Jawa Timur	5 petal

Tabel 2. Karakter morfologi bunga terpilih pada bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand

Karakter	Keterangan
Tipe bunga (TB)	Modifikasi 1: 5 petal zigomorfik; Modifikasi 2: 1 lunas

Karakter	Keterangan
	termodifikasi + 1 bendera; Modifikasi 3: 2 lunas termodifikasi + 1 bendera; Modifikasi 4: 3 lunas/ sayap termodifikasi + 1 bendera; Modifikasi 5: 4 lunas/sayap termodifikasi + 1 bendera
Susunan mahkota bunga (SMB)	1: kupu-kupu; 2: memutar
Lunas (L)	0: tidak ada; 1: ada
Panjang tangkai bunga (PTB)	Diukur dari dasar tangkai bunga hingga dasar kelopak bunga (cm)
Panjang daun gagang (PDG)	Diukur dari dasar hingga ujung daun gagang (cm)
Lebar daun gagang (LDG)	Diukur dari satu sisi daun ke sisi lainnya secara horizontal (cm)
Panjang kelopak (PK)	Diukur dari dasar hingga ujung kelopak bunga (cm)
Panjang bunga (PB)	Diukur dari dasar kelopak hingga ujung mahkota tertinggi (cm)
Panjang mahkota bunga (PM)	Diukur dari dasar mahkota hingga ujung mahkota tertinggi (cm)
Lebar bunga (LB)	Diukur dari satu sisi bunga ke sisi lainnya secara horizontal (cm)
Lebar petal terbesar (LPT)	Diukur dari satu sisi petal ke sisi lainnya secara horizontal (cm)
Panjang putik (PP)	Diukur dari pangkal hingga ujung putik bunga
Panjang tangkai putik (PTP)	Diukur dari pangkal tangkai putik hingga ujung putik bunga (cm)
Tipe benang sari (TBS)	1: <i>Diadelphous</i> ; 2: bebas
Panjang tangkai sari (PTS)	Diukur dari pangkal hingga ujung tangkai sari (cm)
Jumlah kepala sari (JKS)	Dihitung jumlah kepala sari per bunga
Posisi kepala putik dibanding kepala sari (PKP)	1: superior; 2: semi inferior; 3: inferior
Kuantitas serbuk sari (KSS)	Dihitung jumlah serbuk sari bunga
Viabilitas serbuk sari (VSS)	Dihitung persentase viabilitas serbuk sari bunga (%)

Pelaksanaan Percobaan

Persiapan bahan tanam diawali dengan perendaman benih dalam air selama 12 jam guna memecah dormansi benih. Benih kemudian disemai dalam media tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Setelah bibit berumur 2 MSS, bibit ditanam pada gulud dengan ukuran 5 x 1 m. Jarak tanam yang digunakan adalah 1 x 1 m sehingga setiap gulud terdiri atas 5 tanaman. Pupuk yang diberikan selama penanaman adalah pupuk NPK majemuk dengan perbandingan 18-18-5. Terdapat 14 karakter kuantitatif dan 5 karakter kualitatif yang diamati (Tabel 2).

Pengamatan kuantitas serbuk sari dan viabilitas serbuk sari dilakukan di laboratorium. Kuantitas serbuk sari per bunga dihitung menggunakan larutan asam asetat 20% dan serbuk sari yang teramati pada perbesaran mikroskop 40x dihitung menggunakan *counter*. Asam asetat digunakan dalam visualisasi serbuk sari (Halbritter et al., 2018). Uji viabilitas serbuk sari ditentukan dengan cara mewarnai preparat serbuk sari menggunakan asetokarmin 1%. Serbuk sari

yang *viable* akan menyerap warna asetokarmin dan berubah menjadi merah sedangkan serbuk sari yang tidak *viable* tidak menghasilkan warna (bening). Serbuk sari yang *viable* selanjutnya dibandingkan dengan total serbuk sari untuk didapat persentase viabilitas serbuk sarinya.

Analisis Data

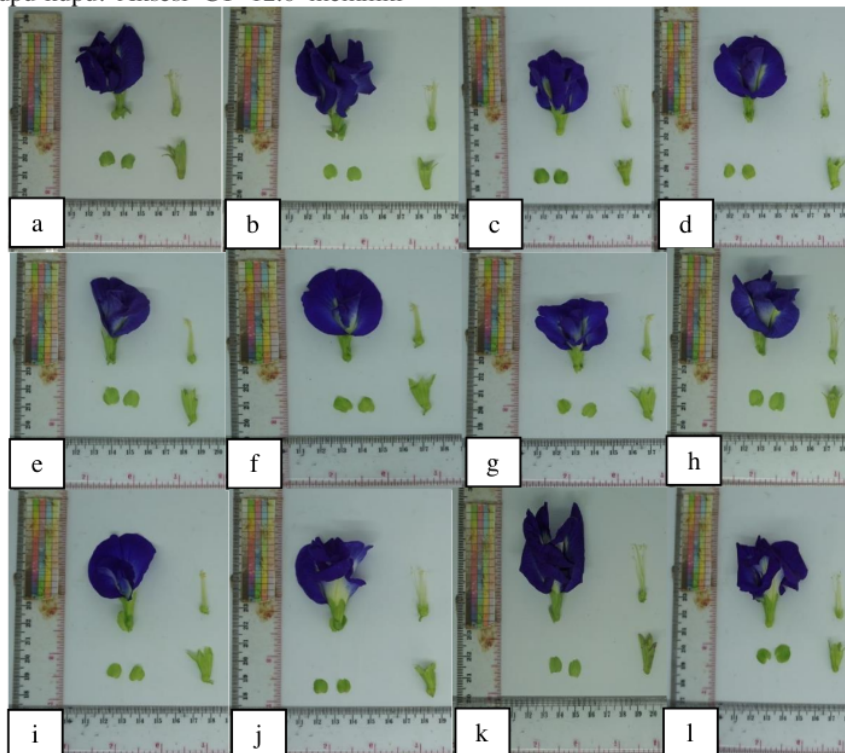
Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan Analisis Komponen Utama/*Principal Component Analysis* (PCA) serta Analisis Klaster/*Cluster Analysis*. Pengolahan data dibantu dengan menggunakan program NTSYS 2.1. PCA untuk mengetahui karakter yang berpengaruh pada keragaman antar aksesi. Analisis klaster digunakan untuk mengetahui keragaman antar aksesi dan mengelompokkan aksesi ke dalam kelompok yang relatif homogen (yang disebut klaster). Analisis klaster juga memberi informasi kekerabatan antar aksesi yang diuji.

HASIL

Keragaman Fenotipik 12 Aksesori Bunga Telang *Double Petal* Asal Indonesia dan Thailand

Aksesori asal Indonesia dan Thailand memiliki morfologi bunga yang bervariasi (Gambar 1). Tabel 3 menunjukkan hasil pengamatan karakter kuantitatif morfologi bunga 12 aksesori bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand. Aksesori asal Bali (CT12.2, CT12.3, CT12.4, CT12.5, CT12.6, dan CT12.7) memiliki tipe bunga yaitu modifikasi 3 hingga 5 dan struktur mahkota bunga kupu-kupu. Aksesori CT 12.6 memiliki

perbedaan dengan aksesori lainnya, yaitu tidak memiliki lunas dan tipe benang sari bebas (kecuali CT12.6). Aksesori lainnya yang berasal dari Thailand (CT8.1, CT8.2, CT8.3), Jawa Barat (CT22), dan Jawa Timur (CT24.1 dan CT24.2) memiliki tipe bunga modifikasi 5, susunan mahkota bunga memutar, tidak memiliki lunas, dan tipe benang sari bebas. Aksesori CT8.1 memiliki perbedaan dengan aksesori lainnya, yaitu memiliki susunan mahkota kupu-kupu dan tipe benang sari *diadelphous*.



Gambar 1. Morfologi bunga 12 aksesori bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand, yaitu CT8.1 (a), CT8.2 (b), CT8.3 (c), CT12.2 (d), CT12.3 (e), CT12.4 (f), CT12.5 (g), CT12.6 (h), CT12.7 (i), CT22 (j), CT24.1 (k), dan CT24.2 (l)

Tabel 3 menunjukkan hasil pengamatan karakter kuantitatif morfologi bunga 12 aksesori bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand. Terdapat beberapa aksesori yang menampilkan karakter ukuran bunga terbaik. Aksesori CT8.1 memiliki tangkai bunga, tangkai putik, dan tangkai sari terpanjang di antara aksesori lainnya. Karakter lebar bunga terbesar

ditunjukkan oleh aksesori CT8.2, aksesori CT12.2 memiliki panjang kelopak dan panjang putik terbesar, aksesori CT12.4 memiliki ukuran mahkota bunga terpanjang, aksesori CT12.6 memiliki panjang bunga terbesar, dan aksesori CT12.7 memiliki ukuran daun gagang, kuantitas dan viabilitas serbuk sari terbesar.

Tabel 3. Hasil karakterisasi 19 karakter morfologi bunga 12 aksesi bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand

Karakter	CT8.1	CT8.2	CT8.3	CT12.2	CT12.3	CT12.4	CT12.5	CT12.6	CT12.7	CT22	CT24.1	CT24.2
TB	5	5	5	5	3	3	4	5	3	5	5	5
SMB	1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
L	2	2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	2
PTB	1,11	0,82	0,93	0,69	0,79	0,81	0,88	0,76	0,76	0,77	0,94	0,69
PDG	0,77	0,67	0,74	0,82	0,82	0,77	0,68	0,80	0,92	0,84	0,79	0,65
LDG	0,78	0,73	0,79	0,71	0,77	0,77	0,69	0,78	0,89	0,83	0,80	0,71
PK	1,88	1,93	1,68	1,98	1,88	1,97	1,77	1,78	1,89	1,76	1,86	1,79
PB	5,35	5,07	5,32	4,73	4,92	4,93	4,99	5,45	4,89	5,06	5,29	4,73
PM	3,76	3,62	3,62	3,31	3,58	3,91	3,53	3,53	3,88	3,57	3,70	3,73
LB	3,92	4,01	3,73	3,38	3,62	3,79	3,63	3,79	3,77	3,77	3,84	3,79
LPT	3,51	3,38	3,30	3,43	3,71	3,70	3,50	3,47	3,77	3,11	3,41	3,30
PP	2,80	2,51	2,44	2,83	2,59	2,60	2,41	2,70	2,66	2,45	2,55	2,45
PTP	2,32	2,11	2,16	2,17	2,21	2,29	2,19	2,24	2,27	2,09	2,27	2,14
TBS	1	2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	2
PTS	2,27	2,09	2,15	1,96	1,95	1,97	1,97	1,95	1,91	2,16	2,22	1,91
JKS	9,39	9,44	9,56	9,33	9,94	9,52	9,72	9,83	9,89	9,17	9,48	9,33
PKP	2	3	3	2	1	2	2	2	2	3	3	3
KSS	1926,67	1682,96	1860,00	1202,22	2148,15	2310,86	2331,11	1713,33	3783,70	1928,89	1643,95	1880,00
VSS	94,89%	93,03%	94,14%	95,04%	90,92%	95,47%	85,53%	95,47%	96,95%	93,08%	92,89%	94,77%

Hasil karakterisasi morfologi bunga 12 aksesi bunga telang *double petal* menunjukkan keragaman yang luas dengan total persentase keragaman 88,82% (Tabel 4). Terdapat lima komponen utama (PC) yang memiliki nilai akar ciri >1 dan berpengaruh terhadap keragaman antaraksesi. Komponen utama lainnya di luar lima PC tersebut dianggap tidak banyak menjelaskan keragaman aksesi. PC-1 dengan nilai akar ciri 7,49 berkontribusi 39,4% dari total keragaman aksesi bunga telang

double petal. PC-2 dengan nilai akar ciri 3,69 berkontribusi 19,44% dari total keragaman. PC-1 dan PC-2 dengan nilai kumulatif 58,90% menjelaskan sebagian besar keragaman aksesi. PC-3 memiliki nilai akar ciri 2,18 dan berkontribusi 11,52% terhadap total keragaman. PC-4 memiliki nilai akar ciri 2,01 dan berkontribusi 10,62% dari total keragaman. PC-5 memiliki nilai akar ciri 1,54 dan berkontribusi 8,12% terhadap total keragaman.

Tabel 4. Nilai koefisien 19 karakter morfologi bunga telang *double petal* untuk lima PC pertama pada *Principal Component Analysis*

Karakter	PC-1	PC-2	PC-3	PC-4	PC-5
Tipe bunga	0,8539	-0,0578	0,4189	-0,1190	-0,0854
Susunan mahkota bunga	0,8693	0,0324	-0,3352	-0,1550	0,0969
Lunas	0,8726	0,3757	0,0766	-0,0635	-0,0350
Panjang tangkai bunga	0,1721	0,6364	0,3550	0,5801	0,1056
Panjang daun gagang	-0,5085	0,3633	0,0647	-0,4185	-0,5164
Lebar daun gagang	-0,1806	0,7310	-0,2900	-0,3765	-0,3906
Panjang kelopak	-0,5262	-0,0497	0,3745	-0,3276	0,5640
Panjang bunga	0,3789	0,6596	0,2823	0,3351	-0,3652
Panjang mahkota	-0,2234	0,6822	-0,4624	-0,0285	0,4761
Lebar bunga	0,4038	0,6897	-0,2228	0,1027	0,3796
Lebar petal terbesar	-0,9247	0,2145	-0,0519	0,1442	0,1501

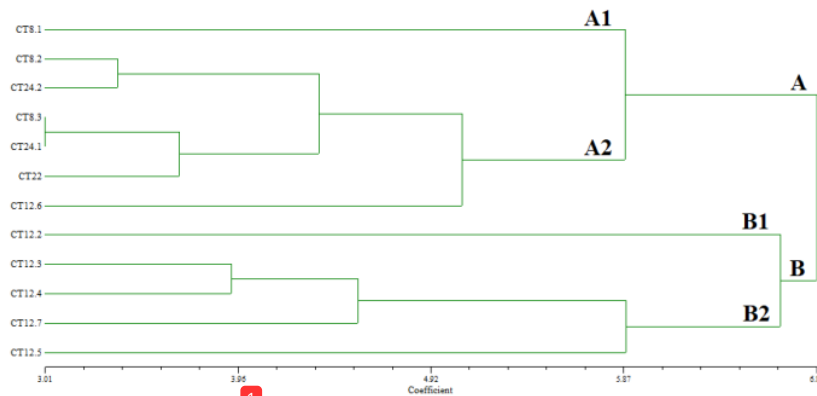
Karakter	PC-1	PC-2	PC-3	PC-4	PC-5
Panjang putik	-0,4832	0,1935	0,7379	-0,3733	-0,0104
Panjang tangkai putik	-0,5682	0,6315	0,3002	0,1645	0,1299
Tipe benang sari	0,8631	0,0940	-0,2385	-0,1805	-0,1605
Panjang tangkai sari	0,5659	0,5422	0,3876	0,1830	-0,0074
Jumlah kepala sari	-0,6550	0,1282	-0,2643	0,3482	-0,3708
Posisi kepala putik dibanding kepala sari	0,8689	0,1020	-0,2383	-0,2231	0,1704
Kuantitas serbuk sari	-0,5916	0,3648	-0,6245	-0,0030	-0,0367
Viabilitas serbuk sari	-0,0631	0,4381	0,1083	-0,8020	0,0998
Nilai akar ciri	7,22	3,73	2,36	2,05	1,51
Keragaman (%)	37,97	19,64	12,44	10,79	7,97
Kumulatif (%)	37,97	57,62	70,06	80,85	88,82

Keterangan: *angka yang dicetak tebal menunjukkan diskriminan $>0,5$ atau $<-0,5$ dan berkontribusi terhadap keragaman (Jolliffe, 2002)

Kekerabatan 12 Aksesi Bunga Telang *Double Petal* Asal Indonesia dan Thailand

Hasil analisis kluster 12 aksesi bunga telang *double petal* menunjukkan kekerabatan yang jauh dengan jarak *euclidean* 3,01–6,83 (Gambar 2). Aksesi-aksesi tersebut terbagi menjadi dua kluster utama, yaitu A dan B.

Kluster A terbagi menjadi dua subkluster, yaitu A1 dan A2; kluster B terbagi menjadi dua subkluster, yaitu B1 dan B2. Kluster A terdiri dari 1 aksesi asal Bali, 1 aksesi asal Jawa Barat, 2 aksesi asal Jawa Timur, 3 aksesi asal Thailand, sedangkan kluster B terdiri dari 5 aksesi asal Bali.



Gambar 2. Dendrogram 12 aksesi bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand berdasarkan 19 karakter morfologi bunga

PEMBAHASAN

Keragaman Fenotipik 12 Aksesi Bunga Telang *Double Petal* Asal Indonesia dan Thailand

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi yang tinggi antaraksesi bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand. Aksesi asal Bali menunjukkan morfologi bunga yang berbeda dengan aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan Thailand. Karakter kualitatif dan kuantitatif yang diamati

seluruhnya berpengaruh terhadap keragaman antaraksesi. Bila dibandingkan dengan karakter kuantitatif, karakter kualitatif lebih menunjukkan perbedaan morfologi bunga antaraksesi.

Aksesi asal Thailand memiliki kemiripan dan perbedaan morfologi. Aksesi-aksesi ini memiliki kemiripan tipe bunga modifikasi 5 (Tabel 2). Namun, terdapat beberapa perbedaan antaraksesi. Aksesi CT8.1 memiliki susunan mahkota bunga kupu-kupu, tipe

benang sari *diadelphous*, dan posisi kepala putik semi inferior, sedangkan aksesi CT8.2 dan CT8.3 memiliki susunan mahkota bunga memutar, tipe benang sari bebas, dan posisi kepala putik inferior. Aksesi-aksesi ini memiliki kemiripan morfologi dengan aksesi asal Jawa Barat (CT22) dan Jawa Timur (CT24.1 dan CT24.2). Ketiga aksesi tersebut memiliki tipe bunga modifikasi 5, struktur mahkota bunga memutar, tipe benang sari bebas, dan posisi kepala putik inferior.

Aksesi asal Bali memiliki morfologi yang berbeda dengan aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan Thailand. Seluruh aksesi asal Bali memiliki morfologi yang serupa (kecuali CT12.6). Aksesi asal Bali memiliki tipe bunga modifikasi 3 hingga 5. Selain itu, aksesi-aksesi asal Bali menunjukkan inkonsistensi dalam menghasilkan ukuran petal bunga. Aksesi dengan tipe bunga modifikasi 3 dapat memiliki tipe bunga modifikasi 1, 2, 4, hingga 5. Namun, tipe bunga modifikasi 3 merupakan tipe dominan dari aksesi tersebut. Inkonsistensi jumlah petal per bunga ini dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, salah satunya adalah suhu. Suhu adalah faktor yang memengaruhi jumlah petal per bunga pada *Cardamine hirsute* (McKim et al., 2017). Aksesi-aksesi ini (kecuali CT12.6) memiliki susunan mahkota bunga kupu-kupu (susunan mahkota bunga legum), memiliki lunas, dan tipe benang sari *diadelphous*. Posisi kepala putik dibanding kepala sari bervariasi pada aksesi asal Bali dan mayoritas aksesi memiliki tipe semi inferior.

Berdasarkan hasil PCA, terdapat keragaman yang luas pada populasi aksesi bunga telang *double petal* asal Indonesia dan Thailand. Terdapat lima komponen utama yang menjelaskan 88,82% keragaman pada 12 aksesi bunga telang. Nilai tiap karakter pada PC (positif ataupun negatif) menunjukkan bobot kontribusi karakter terhadap PC. Semakin besar nilai akar ciri dan nilai karakter, maka semakin besar pengaruhnya terhadap keragaman (Pachauri, Sarawgi, Bhandarkar, & Ojha, 2017). PC-1 memiliki nilai akar ciri terbesar dan berpengaruh paling besar pada keragaman aksesi, yaitu sebesar 37,97%. Pada PC-1, terdapat 12 karakter yang berkontribusi pada persentase keragaman PC-1. Lima

karakter yaitu keberadaan lunas, susunan mahkota bunga, posisi kepala putik dibanding kepala sari, tipe benang sari, dan tipe bunga memiliki nilai positif dan berpengaruh pada pengelompokan aksesi dalam kelompok yang sama. Karakter dengan nilai positif menjelaskan keragaman maksimal dalam PC (Rao et al., 2018). Oleh karena itu, lima karakter tersebut merupakan karakter dengan pengaruh paling besar pada keragaman aksesi. Delapan karakter lainnya, yaitu panjang daun gagang, panjang kelopak, lebar petal terbesar, panjang tangkai putik, jumlah kepala sari, dan kuantitas serbuk sari bernilai negatif dan berkontribusi pada pengelompokan aksesi dalam kelompok yang berbeda.

Pada PC-2, terdapat tujuh karakter yang berpengaruh terhadap keragaman, antara lain panjang tangkai bunga, lebar daun gagang, panjang bunga, panjang mahkota, lebar bunga, panjang tangkai putik, dan panjang tangkai sari. Hal ini selaras dengan pernyataan Ulimaz et al. (2020) bahwa karakter panjang bunga dan lebar bunga berpengaruh signifikan terhadap keragaman aksesi bunga telang asal Indonesia. Karakter panjang putik berkontribusi positif terhadap PC-3 sedangkan karakter kuantitas serbuk sari berkontribusi negatif. Pada PC-4, karakter panjang tangkai bunga berkontribusi positif terhadap keragaman dan karakter viabilitas serbuk sari berkontribusi negatif. Pada PC-5, karakter panjang kelopak berkontribusi positif terhadap PC, sedangkan karakter panjang daun gagang berkontribusi negatif. Berdasarkan hasil PCA, diketahui bahwa seluruh karakter morfologi bunga yang diamati berkontribusi pada keragaman 12 aksesi bunga telang *double petal*.

Kekerabatan 12 Aksesi Bunga Telang *Double Petal* Asal Indonesia dan Thailand

Hasil analisis kluster 12 aksesi bunga telang *double petal* menunjukkan kekerabatan yang jauh dengan jarak *euclidean* 3,01–6,83 (Gambar 2). Jarak *euclidean* digunakan untuk menunjukkan ketidakmiripan dalam kluster, dimana semakin besar nilai koefisien ketidakmiripan, kekerabatan antar individu dalam populasi semakin jauh. Hal ini selaras

dengan pernyataan Karuniawan et al. (2017) bahwa bunga telang asal Indonesia memiliki keragaman fenotipe yang luas dengan koefisien ketidakmiripan 0,00–4,79. Havananda dan Luengwilai (2019) juga menyatakan bahwa dendrogram 46 aksesi bunga telang memiliki angka ketidakmiripan 80% berdasarkan aktivitas antioksidan dan fitokimia dalam bunga. Oleh karena itu, kekerabatan yang jauh pada 12 aksesi bunga telang *double petal* menunjukkan adanya keragaman yang luas pada aksesi-aksesi tersebut.

Analisis klaster berdasarkan 19 karakter morfologi bunga¹ membagi 12 aksesi bunga telang menjadi dua klaster utama, yaitu A dan B. Hasil analisis klaster menunjukkan pengelompokan aksesi berdasarkan kemiripan morfologi antaraksesi dalam klaster yang sama dan ketidakmiripan antaraksesi pada klaster yang berbeda pada koefisien 6,83. Hasil ini juga menunjukkan bahwa pembagian dua klaster utama ditentukan oleh beberapa karakter kualitatif antara lain keberadaan lunas, susunan mahkota bunga, posisi kepala putik dibanding kepala sari, tipe benang sari, dan tipe bunga. Hal ini sesuai dengan hasil PCA bahwa karakter tersebut memiliki kontribusi tinggi terhadap keragaman. Ini menunjukkan bahwa PCA yang digunakan untuk mengidentifikasi karakter-karakter paling berpengaruh terhadap keragaman, dapat pula digunakan untuk memperkirakan karakter-karakter penting yang memengaruhi pengelompokan aksesi dalam analisis klaster (Jain & Patel, 2016). Pengelompokan aksesi pada klaster A dan B berdasarkan karakter tipe bunga, susunan mahkota bunga, dan keberadaan lunas. Aksesi pada klaster A memiliki tipe bunga modifikasi 5, susunan mahkota bunga memutar, tidak memiliki lunas. Klaster A terdiri dari 1 aksesi asal Bali (CT12.6), 1 aksesi asal Jawa Barat (CT22), 2 aksesi asal Jawa Timur (CT24.1 dan CT24.2), dan 3 aksesi asal Thailand (CT8.1, CT8.2, dan CT8.3). Aksesi pada klaster B memiliki tipe bunga modifikasi 3 hingga 5, susunan mahkota bunga kupu-kupu, dan memiliki lunas⁵. Klaster B terdiri dari lima aksesi asal Bali (CT12.2, CT12.3, CT12.4, CT12.5, dan CT12.7). Berdasarkan hal tersebut, diketahui bahwa

terdapat perbedaan morfologi antara aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan Thailand dengan aksesi asal Bali (kecuali CT12.6).

Klaster A terbagi menjadi dua subklaster pada koefisien ketidakmiripan 5,87. Aksesi subklaster A1 terdiri dari aksesi CT8.1. Aksesi tersebut berbeda dengan aksesi lainnya pada subklaster A2. Aksesi pada subklaster A2 terdiri dari CT8.2, CT24.2, CT8.3, CT24.1, CT22, dan CT12.6. Aksesi CT8.1 memiliki tipe benang sari *diadelphous*, susunan mahkota bunga kupu-kupu, dan posisi kepala putik semi inferior, sedangkan aksesi pada subklaster A memiliki tipe benang sari bebas, susunan mahkota bunga memutar, dan posisi kepala putik inferior. Aksesi CT8.3 dan CT24.1 memiliki koefisien ketidakmiripan 3,01 dan merupakan aksesi dengan kekerabatan paling dekat. Kedua aksesi ini memiliki morfologi bunga yang paling mirip dibandingkan aksesi-aksesi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan 1 aksesi asal Bali memiliki kemiripan morfologi dengan aksesi asal Thailand.

Klaster B terbagi menjadi dua subunit klaster pada koefisien ketidakmiripan 6,59. Subklaster B1 hanya terdiri dari 1 aksesi yaitu CT12.2, sedangkan subklaster B2 terdiri dari aksesi CT12.3, CT12.4, CT12.7, dan CT12.5. Kedua subklaster ini memiliki ketidakmiripan pada tipe bunga; subklaster B1 memiliki tipe bunga modifikasi 5, sedangkan subklaster B2 memiliki tipe bunga modifikasi 3 dan 4. Selain itu, aksesi subklaster B1 memiliki panjang bunga, panjang mahkota, dan lebar bunga lebih kecil, serta kuantitas serbuk sari lebih sedikit dibanding aksesi subklaster B2. Pengelompokan klaster B menunjukkan bahwa hampir seluruh aksesi asal Bali memiliki morfologi yang mirip.

Dendrogram 12 aksesi bunga telang menunjukkan pengelompokan aksesi berdasarkan ketidakmiripan antaraksesi. Nilai koefisien *euclidean* yang besar menunjukkan tingginya derajat keragaman dalam populasi (Wicaksana, Gilani, Ahmad, Kikuchi, & Watanabe, 2011). Aksesi dengan karakter yang mirip akan dikelompokkan dalam klaster yang sama dan sebaliknya. Aksesi-aksesi asal Indonesia memiliki fenotipe berbeda-beda dan

terbagi dalam dua klaster utama berbeda (klaster A terdiri dari aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan 1 aksesi asal Bali; klaster B terdiri dari aksesi asal Bali). Di sisi lain, aksesi-aksesi asal Thailand memiliki fenotipe yang mirip sehingga dikelompokkan dalam satu klaster utama. Oleh karena itu, diketahui bahwa sebagian besar aksesi dari berbagai daerah di Indonesia (Bali, Jawa Barat, dan Jawa Timur) memiliki kekerabatan yang jauh, sedangkan aksesi asal Thailand memiliki kekerabatan yang dekat. Pengelompokkan ini menunjukkan bahwa pembagian klaster tersebut dipengaruhi oleh daerah asal aksesi, di mana aksesi dari asal daerah yang sama cenderung memiliki fenotipe yang sama. Bishoyi, Pillai, Geetha, dan Maiti (2014) juga menyatakan bahwa pembagian klaster 17 aksesi bunga telang asal India dipengaruhi oleh asal lokasi geografis tiap aksesi. Ini dapat disebabkan karena adanya perbedaan lingkungan tumbuh dari daerah asal tiap aksesi. Perbedaan kondisi lingkungan memengaruhi penampilan aksesi karena penampilan tanaman merupakan hasil perpaduan genetik, lingkungan, dan interaksi genetik dan lingkungan.

SIMPULAN

Terdapat keragaman fenotipik yang luas antara aksesi asal Indonesia dan Thailand. Hasil PCA dengan persentase keragaman 88,82% menunjukkan bahwa seluruh karakter morfologi bunga berpengaruh terhadap keragaman aksesi bunga telang *double petal*. Aksesi asal Bali memiliki morfologi bunga yang berbeda jauh dengan aksesi asal Jawa Barat, Jawa Timur, dan Thailand pada analisis klaster dengan koefisien ketidakmiripan 6,83. Pembagian klaster antaraksesi sangat dipengaruhi oleh karakter kualitatif bunga dan sedikit dipengaruhi oleh karakter kuantitatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang dilaksanakan selama 2019–2020 ini didukung sepenuhnya secara finansial oleh Sensient Colors, LLC, 2515 North Jefferson Avenue, Saint Louis, Missouri 63106, USA.

REFERENSI

- Acquaah, G. (2012). *Principles of plant genetics and breeding: Second edition*. Oxford: Blackwell Publishing.
- 8 Bishoyi, A. K., Pillai, V. V., Geetha, K. A., & Maiti, S. (2014). Assessment of genetic diversity in *Clitoria ternatea* populations from different parts of India by RAPD and ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, 1597-1609. doi: 10.1007/s10722-014-0145-y
- 16 Bodhipadma, K., Noichinda, S., Onnui, K., Phanomchai, S., 16 Annakanta, L., & Leung, D. (2017). Direct androgenesis in anther culture of butterfly pea related to flower development. *Journal of Applied Science*, 16(1), 1-6. doi: 10.14416/j.appsci.2017.04.001.
- Fantz, P. R. (1977). A monograph of the genus *Clitoria* (Leguminosae: Glycineae) (Doctoral dissertation), University of Florida, Gainesville, Florida). Retrieved from <https://archive.org/details/monographofgenus00fant>.
- 15 Gollen, B., Mehla, J., & Gupta, P. (2018). *Clitoria ternatea* Linn.: A herb with potential pharmacological activities: Future prospects as therapeutic herbal medicine. *Journal of Pharmacological Reports*, 3(1), 1-8.
- Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., ... Frosch-Radivo, A. (2018). *Illustrated Pollen Terminology*. Cham: Springer.
- Havananda, T., & Luengwilai, K. (2019). Variation in floral antioxidant activities and phytochemical properties among butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66(3), 645-658. doi: 10.1007/s10722-018-00738-6.
- 10 Jain, S. K., & Patel, P. R. (2016). Genetic diversity and principle component analyses for fodder yield and their component traits in genotypes of forage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Annals of Arid Zone*, 55(1-2), 17-23. doi: 10.20546/ijcmas.2019.809.101.
- 1 Jolliffe, I. T. (2002). *Principal component*

- analysis. New York: Springer-Verlag.
- Karuniawan, A., Ulimaz, T. A., Kusumiyati, Yulia, E., Widiyanti, F., Wicaksana, N., ... Suganda, T. (2017). Early identification on the genetic diversity of Indonesian butterfly pea accession as colorant food based on morphological traits. In Y. Wahyu, D. Wirnas, Trikoesoemaningtyas, A. W. Ritonga, & S. Marwiyah (Ed.), *Sustainable use of genetic resources for quality and productivity improvement*. Proceedings of PERIPI-2017 International Seminar (pp. 78–83). Bogor, Indonesia.
- Mastuti, E., Fristianingrum, G., & Andika, Y. (2013, Desember 5). *Ekstraksi dan uji kestabilan warna pigmen antosianin dari bunga telang (Clitoria ternatea L.) sebagai bahan pewarna makanan*. Paper presented at Simposium Nasional RAPI XII - 2013 FT UMS, Surakarta, Indonesia. Retrieved from https://publikasiilmiah.ums.ac.id/bitstream/handle/11617/4212/K08_TK12_RAPI%202013_Teknik%20Kimia.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- McKim, S. M., Routier-Kierzkowska, A. L., Monniaux, M., Kierzkowski, D., Pieper, B., Smith, R. S., ... Hay, A. (2017). Seasonal regulation of petal number. *Plant Physiology*, 175(2), 886-903. doi: 10.1104/pp.17.00563.
- Mensah, R., Leach, D., Young, A., Watts, N., & Glennie, P. (2015). Development of *Clitoria ternatea* as a biopesticide for cotton pest management: Assessment of product effect on *Helicoverpa* spp. and their natural enemies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 154(2), 131-145. doi: 10.1111/eea.12263.
- Morsy, A. S. M., & Awadalla, A. (2017). Growth, forage yield and quality of *Clitoria* (*Clitoria ternatea*) as affected by dates and methods of sowing and phosphorus fertilizer under Toshka Region condition. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6(2), 506-518.
- Pachauri, A. K., Sarawgi, A. K., Bhandarkar, S., & Ojha, G. C. (2017). Agromorphological characterization and morphological based genetic diversity analysis of rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. *Journal of Pharmacognosy and Pytochemistry*, 6(6), 75-80.
- Petersen, R. G. (1994). *Agricultural field experiments*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Rao, B. B., Swami, D. V., Ashok, P., Babu, B. K., Ramajayam, D., & Sasikala, K. (2018). Genetic diversity studies based on principal component analysis for yield attributes in cassava genotypes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(12), 1424-1430. doi: 10.20546/2018.712.170.
- Ramaswamy, V., Varghese, N., & Simon, A. (2011). An investigation on cytotoxic and antioxidant properties of *Clitoria ternatea* L. *International Journal of Drug Discovery*, 3(1), 74-77. doi: 10.9735/0975-4423.151.74-77.
- Saroja, T. L. (1961). Observations on the actinomorphic form of *Clitoria ternatea* Linn. *Bulletin of the Botanical Survey of India*, 3(3 & 4), 409-410.
- Sen, N. K., and Krishnan, R. (1961). Breakdown of the papilionaceous structure in the double flowers of *Clitoria ternatea* and its inheritance. *Current Science (India)*, 30(11), 435-436.
- Suebkhampet, A., & Sotthibandhu, P. (2012). Effect of using aqueous crude extract from butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea* L.) as a dye on animal blood smear staining. *Suranaree Journal Science Technology*, 19(1), 15-19.
- Suganda, T., & Adhi, R. (2017). Uji pendahuluan efek fungisida bunga kembang telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae penyebab penyakit moler pada bawang merah. *Jurnal Agrikultura*, 28(3), 136-140. doi: 10.24198/agrikultura.v28i3.15746.
- Sutedi, E. (2013). Potensi kembang telang (*Clitoria ternatea*) sebagai tanaman pakan ternak. *Wartazoa*, 23(2), 51-62. doi: 10.14334/wartazoa.v23i2.715.

3
Ulimaz, T. A., Ustari, D., Aziza, V., Suganda, T., Concibido, V., Levita, J., & Karuniawan, A. (2020). Keragaman genetik bunga telang (*Clitoria ternatea*) asal Indonesia berdasarkan karakter bunga dan komponen hasil pada dua lahan berbeda. *Jurnal AgroBiogen*, 16(1), 1-6. doi: 10.21082/jbio.v16n1.2020.p1-6.

1
Wicaksana, N., Gilani, S. A., Ahmad, D., Kikuchi, A., & Watanabe, K. N. (2011). Morphological and molecular characterization of underutilized medicinal wild ginger (*Zingiber barbatum* Wall.) from Myanmar. *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilization*, 9(4), 531-542. doi: 10.1017/S1479262111000840.

14
Zussiva, A., Laurent, B. K., & Budiyati, C. S. (2012). Ekstraksi dan analisis zat warna biru (antosianin) dari bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alami. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1), 356-365.

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

9%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	ejournal.litbang.pertanian.go.id Internet Source	4%
2	Submitted to Universitas Jember Student Paper	4%
3	medpub.litbang.pertanian.go.id Internet Source	1%
4	www.cisl.cam.ac.uk Internet Source	1%
5	www.mouseprice.com Internet Source	1%
6	journal.uinjkt.ac.id Internet Source	1%
7	repo.stikesicme-jbg.ac.id Internet Source	1%
8	dmapr.icar.gov.in Internet Source	1%
9	S.M. Campbell, B.J. Pearson, J. Chen, S.C. Marble. " Estimation of leaf chlorophyll content of butterfly pea () as a function of	1%

fertilization utilizing a non-destructive, hand-held spectral analyzer ", Acta Horticulturae, 2020

Publication

10	eprints.icrisat.ac.in Internet Source	1 %
11	www.plantcode.org Internet Source	1 %
12	Anita Margret. "chapter 11 Stratagems of Nanotechnology Augmenting the Bioavailability and Therapeutic Efficacy of Traditional Medicine to Formulate Smart Herbal Drugs Combating", IGI Global, 2017 Publication	1 %
13	ijcmas.com Internet Source	1 %
14	jurnal.ugm.ac.id Internet Source	1 %
15	www.longdom.org Internet Source	1 %
16	en.mahidol.ac.th Internet Source	1 %
17	jurnal.untad.ac.id Internet Source	1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On