

**KARAKTER MORFOLOGI DAN FILOGENETIK
EMPAT JENIS BAMBU KOLEKSI AREAL KONSERVASI
SUMBER DAYA GENETIK BPTH WILAYAH II
DI KABUPATEN GOWA**

*MORPHOLOGICAL CHARACTERS AND PHYLOGENETIC
OF FOUR TYPES OF BAMBOO COLLECTION IN THE
GENETIC CONSERVATION AREA OF FOREST PLANT SEED
CENTER (BPTH) REGION II IN GOWA REGENCY*

**JENI OKTAVINA KAMBEN PATINTINGAN
M012182003**



**PROGRAM PASCASARJANA ILMU KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**KARAKTER MORFOLOGI DAN FILOGENETIK
EMPAT JENIS BAMBU KOLEKSI AREAL KONSERVASI
SUMBER DAYA GENETIK BPTH WILAYAH II
DI KABUPATEN GOWA**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Magister Ilmu Kehutanan

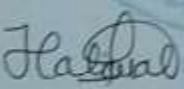
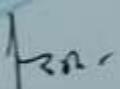
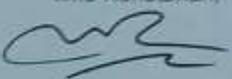
Disusun dan diajukan oleh

JENI OKTAVINA KAMBEN PATINTINGAN
M012182003

kepada

FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS	
KARAKTER MORFOLOGI DAN FILOGENETIK EMPAT JENIS BAMBU KOLEKSI AREAL KONSERVASI SUMBERDAYA GENETIK BPTH WILAYAH II DI KABUPATEN GOWA	
Disusun dan diajukan oleh:	
JENI OKTAVINA KAMBEN PATINTINGAN	
Nomor Pokok: M012182003	
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis pada tanggal 7 Juli 2022. Dan dinyatakan telah memenuhi syarat	
Menyetujui, Komisi Penasihat	
Ketua	Anggota
	
<u>Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.</u>	<u>Prof. Dr. Ir. H. Muh. Restu, M.P.</u>
Ketua Program Studi S2 Ilmu Kehutanan,	Dekan Fakultas Kehutanan,
	
<u>Mukrimin, S.Hut., M.P., Ph.D.</u>	<u>Dr. A. Mujetabir, M.S. Hut., M.P.</u>

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Jeni Oktavina Kamben Patintingan
Nomor Mahasiswa : M012182003
Program Studi : Ilmu Kehutanan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,

Yang menyatakan



Jeni Oktavina Kamben Patintingan

PRAKATA

Puji Syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Bapa atas segala limpahan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian sampai penyusunan tesis dengan judul: " Karakter Morfologi Dan Filogenetik Empat Jenis Bambu Koleksi Areal Konservasi Sumber Daya Genetik BPTH Wilayah II Di Kabupaten Gowa ".

Penulis dengan tulus menyampaikan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P. sebagai ketua komisi penasehat dan Bapak Prof. Dr. Ir. H. Muh. Restu, M.P., sebagai anggota komisi penasehat, yang senantiasa meluangkan waktu memberikan arahan, bimbingan dan motivasi kepada penulis dalam melakukan penelitian, penulisan dan penyelesaian tesis ini
2. Bapak Mukrimin, S.Hut, M.P., PhD., Bapak Dr. Ir. Baharuddin, M.Si. dan Ibu Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P., sebagai tim penguji yang telah dengan ikhlas memberikan kritikan dan saran untuk penyempurnaan tesis ini sesuai dengan ilmu/kepakarannya
3. Kedua orangtua tercinta, suami, anak-anakku tersayang, kakak-kakak dan keluarga untuk segala doa, dukungan, kebersamaan, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan
4. Kepala BPTH Wilayah II Ibu Evi Budiaryanti, M.Si beserta rekan sekantor yang telah memberikan dukungan dalam penyelesaian studi ini

5. Para dosen dan seluruh staf administrasi Fakultas Kehutanan yang telah memberikan ilmunya dan pelayanan akademik selama menempuh pendidikan di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin
6. Saudara-saudara seangkatan di Pascasarjana Ilmu Kehutanan, Fakultas Kehutanan Unhas atas bantuan, motivasi, persaudaraan dan kebersamaannya selama ini
7. Rekan seperjuangan penelitian bambu M. Fadly Makmur, S.Hut, M.Hut
8. Ibu Mirza Arsiaty Arsyad, S.P., M.Si, Ibu Yuni Fitri Cahyaningsih, S.P.,M.Si, Ibu Aminah, S.P, Adik-adik terbaikku dari Laboratorium Dendrologi : Ira, S.Hut, dan dari laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman : Fitriani, S.Hut, Iswanto, S.Hut., M.Si., Muh. Bima Akzad, S.Hut, M.Hut beserta timnya yang telah banyak membantu penelitian dan penyelesaian tesis ini
9. Semua pihak yang turut membantu dalam penelitian ini namun tidak disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya dalam penyelesaian tesis ini.

Penulis berharap semoga hasil penelitian yang tertuang dalam Tesis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Makassar, Juli 2022

Jeni Oktavina Kamben Patinting

RINGKASAN

JENI OKTAVINA KAMBEN PATINTINGAN. *Karakter Morfologi Dan Filogenetik Empat Jenis Bambu Koleksi Areal Konservasi Sumber Daya Genetik BPTH Wilayah II Di Kabupaten Gowa* (Dibimbing oleh Siti Halimah Larekeng dan Muhammad Restu)

Bambu merupakan salah satu dari sekian banyak keanekaragaman jenis tumbuhan Indonesia. Bambu dimanfaatkan dan memiliki arti penting bagi kehidupan masyarakat Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan filogenetik bambu Bulu (*Schizostachyum lima* (Blanco) Merrill), Parring (*Gigantochloa atter* (Hassk) Kurz), Tallang (*Schizostachyum brachycladum* Kurz), dan Hitam (*Gigantochloa atroviolaceae* Widjaja) di areal konservasi genetik BPTH Wilayah II Kabupaten Gowa berdasarkan karakter/urutan morfologi dan molekuler *matK* dan *rbcL*.

Pengamatan karakter morfologi setiap jenis bambu dilakukan terhadap karakter morfologi rimpang, alang-alang, pelepah buluh, cabang dan daun. Variabel kualitatif yang diamati dalam penelitian ini adalah 39 variabel berdasarkan referensi Dr. Lynn Clark, Bamboo Biodiversity 2005-2006 Iowa State University. Sedangkan variabel kuantitatif terdapat 5 variabel yaitu diameter pangkal buluh/batang bawah, panjang ruas/ruas, tebal dinding batang, ukuran pelepah buluh, dan ukuran helaian daun.

Analisis data menggunakan metode linkage analisis cluster berdasarkan jarak Gower pada aplikasi R Statistics. Penelitian molekuler dilakukan dengan menggunakan tahapan ekstraksi DNA, amplifikasi DNA dan sekuensing DNA. Penentuan jarak genetik, komposisi AT dan GC serta analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan software MEGA X berbasis metode UPGMA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kekerabatan bambu berdasarkan karakter morfologinya menunjukkan bahwa bambu yang diuji dapat dikelompokkan berdasarkan genusnya. Parring dan Hitam berkerabat dekat pada cluster yang sama yaitu *Gigantochloa*, sedangkan Bulu dan Tallang berada pada cluster *Schizostachyum*. Sedangkan analisis molekuler juga menunjukkan hasil yang sama. *Sequent rbcL* mampu membedakan antara genus *Gigantochloa* dan *Schizostachyum*, tetapi tidak dapat membedakan antara individu pada tingkat spesies. *Sequent matK* mampu membedakan individu hingga tingkat spesies pada genus *Schizostachyum* sedangkan pada genus *Gigantochloa*, *matK* tidak mampu membedakan individu pada tingkat spesies.

Kata kunci : Konservasi genetik, Bambu, Morfologi, Filogenetik, Analisis DNA

ABSTRACT

JENI OKTAVINA KAMBEN PATINTINGAN. *Morphological Characters and Phylogenetic Of Four Types Of Bamboo Collection In The Genetic Conservation Area of 2nd Regional Seed/Seedling Forest Center (BPTH) in Gowa Regency (Supervised by Siti Halimah Larekeng and Muhammad Restu)*

Bamboo is one of many plant species diversity of Indonesia. Bamboo is utilized and have high importance for Indonesian livelihood.

This research aimed to analyze the phylogenetic relationship of bamboo Bulu (*Schizostachyum lima* (Blanco) Merrill), Parring (*Gigantochloa atter* (Hassk) Kurz), Tallang (*Schizostachyum brachycladum* Kurz), and Hitam (*Gigantochloa atrovioleaceae* Widjaja) in the genetic conservation area of 2nd Regional Seed/Seedling Forest Center (BPTH) in Gowa Regency based on morphological and molecular characters/sequences of matK and rbcL.

Observations of the morphological characters for each type of bamboo were carried out on the morphological characters of rhizomes, reeds, reed midribs, branches and leaves. The qualitative variables observed in this study were 39 variables based on the reference of Dr. Lynn Clark, Bamboo Biodiversity 2005-2006 Iowa State University.

Meanwhile, there are 5 quantitative variables, including the diameter of the base of the reed/lower stem, the length of the internodes/internodes, the thickness of the stem wall, the size of the reed sheath, and the size of the leaf.

The data analysis uses the linkage method of cluster analysis based on Gower's distance in the R Statistics application. Molecular research was carried out using the stages of DNA extraction, DNA amplification and DNA sequencing. Determination of genetic distance, composition of AT and GC as well as phylogenetic analysis were carried out using MEGA X software based on the UPGMA method. Results suggested that the bamboo kinshipness based on morphological characters showed that the tested bamboos were grouped by genus. Parring and Hitam are closely related in the same cluster which is *Gigantochloa*, whereas Bulu and Talang are in the *Schizostachyum* cluster. Whilst, molecular analysis also showed the same results. The rbcL sequence was able to distinguish between the genera *Gigantochloa* and *Schizostachyum*, but was unable to distinguish between individuals at the species level. The matK sequences were able to distinguish up to the species level in the genus *Schizostachyum* while in the genus *Gigantochloa*, matK was unable to distinguish individuals at the species level.

Keywords: Genetical conservation, Bamboo, Morphology, Phylogenetic, DNA analysis

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
E. Ruang Lingkup Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Sistematika dan Klasifikasi Bambu	7
1. Bambu Bulo (<i>Schizostachyum lima</i> (Blanco) Merrill) ...	8
2. Bambu Parring (<i>Gigantochloa atter</i> (Hassk) Kurz) ...	9
3. Bambu Tallang (<i>Schizostachyum brachycladum</i> Kurz)	9
4. Bambu Hitam (<i>Gigantochloa atroviolaceae</i> Widjaja) ..	10
B. Karakter Morfologi Bambu	11
1. Rimpang	13
2. Buluh	13
3. Pelepah Buluh	15
4. Percabangan	16
5. Daun dan Pelepah Daun	17
C. Karakterisasi Menggunakan Penanda Molekuler	19
1. DNA <i>Barcoding</i>	21
2. Ribulosa-1, 5-Bifosfat karboksilase (rbcl) dan Maturase K (matK)	22
3. Sekuensing DNA	24
D. Studi Filogenetik	25
E. Kerangka Pikir Penelitian	30

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	31
A. Waktu Dan Lokasi Penelitian	32
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	32
C. Populasi dan Sampel Penelitian	33
D. Prosedur Penelitian.....	33
1. Karakter Morfologi	33
a. Variabel Pengamatan.....	33
b. Analisis Data Morfologi.....	34
2. Molekuler	34
a. Pengambilan Sampel Daun.....	34
b. Ekstraksi DNA	35
c. Amplifikasi DNA dan Pemisahan Amplikon	35
d. Sekuensing DNA	37
e. Analisis Data	37
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 39
A. Karakter Morfologi Bambu	39
1. Pengamatan Karakter Morfologi	39
a. Rimpang.....	39
b. Buluh	41
c. Pelepah Buluh.....	42
d. Percabangan.....	45
e. Daun.....	46
2. Analisis Filogenetik Bambu Berdasarkan Karakter Morfologi.....	48
B. Molekuler	51
1. Amplifikasi DNA.....	52
2. Sekuensing DNA	54
3. Analisis Filogenetik Bambu Berdasarkan Molekuler...	58
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	 63
A. Kesimpulan.....	63
B. Saran	63

DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Daftar Sampel Jenis Bambu Koleksi ASDG Bambu BPTH Wilayah II di Kabupaten Gowa.....	33
2. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi 16 DNA spesies bambu.....	36
3. Matriks Jarak Genetik 4 Jenis Bambu Berdasarkan Karakter Morfologi.....	49
4. Data Komposisi Sekuens.....	55

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Bagian-bagian Bambu	12
2. Akar Rimpang	13
3. Tipe-tipe Buluh Bambu	14
4. Letak dan Morfologi Dasar dari Pelepah Buluh.....	15
5. Pola Percabangan yang Menunjukkan Ciri Marga.....	16
6. Morfologi Dasar Pelepah Daun Bambu	18
7. Kerangka Berpikir Penelitian	30
8. Peta Lokasi Penelitian di ASDG Bambu BPTH Wilayah II	31
9. Prosedur Penelitian.....	38
10. Karakter Morfologi Rimpang 4 Jenis Bambu	39
11. Karakter Morfologi Buluh 4 Jenis Bambu.....	41
12. Karakter Morfologi Pelepah Buluh 4 Jenis Bambu.....	42
13. Karakter Morfologi Percabangan 4 Jenis Bambu.....	46
14. Karakter Morfologi Daun 4 Jenis Bambu.....	47
15. Dendrogram Hubungan Kekerbatan 4 Jenis Bambu Berdasarkan Karakter Morfologi	49
16. Elektroferogram Pita DNA Hasil Amplifikasi DNA Bambu Menggunakan matK 4	52
17. Elektroferogram Pita DNA Hasil Amplifikasi DNA Bambu Menggunakan matK 5	52
18. Elektroferogram Pita DNA Hasil Amplifikasi DNA Bambu Menggunakan rbcL 1	53
19. Variasi Nukleotida Sekuen matK pada 4 Jenis Bambu	57
20. Variasi Nukleotida Sekuen rbcL pada 4 Jenis Bambu.....	57
21. Dendrogram 4 Jenis Bambu Koleksi ASDG BPTH Wilayah II Berdasarkan Sekuen Gen rbcL 1	59
22. Dendrogram 4 Jenis Bambu Koleksi ASDG BPTH Wilayah II Berdasarkan Sekuen Gen matK 4	61

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Panduan Karakter Morfologi Bambu yang Diamati	70
2.	Dokumentasi Pengambilan Sampel dan Penanganan Sampel ketika tiba di Laboratorium	77
3.	Dokumentasi Penelitian di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon	78
4.	Dokumentasi Pengamatan Karakter Morfologi Sampel Bambu di Lokasi ASDG Bambu BPTH Wilayah II	79

BAB. I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki Sumber Daya Alam dan keanekaragaman hayati (biodiversity) yang cukup tinggi, salah satu contoh yaitu keanekaragaman jenis bambu. Bambu termasuk dalam suku Poaceae, juga dikenal dengan nama Gramineae atau suku rumput-rumputan, bambu mudah sekali dibedakan dengan tumbuhan lainnya, karena tumbuhnya yang merumpun (Yani, 2012). Bambu merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki fungsi dan arti penting bagi kehidupan masyarakat. Bambu relatif mudah tumbuh dan tidak terlalu mempersyaratkan jenis tanah dan tingkat kesuburan tanah, sehingga tumbuhan ini banyak tumbuh tersebar di seluruh pelosok Indonesia.

Secara ekologi akar rimpang bambu mampu menjaga sistem hidrologis sebagai pengikat tanah dan air, sehingga dapat digunakan sebagai tanaman konservasi (K.Widnyana, 2014). Peran penting lainnya bambu dalam ekosistem adalah tumbuhan bambu berpotensi menjadi solusi alternatif dalam mengatasi permasalahan pemanasan global. Bambu merupakan penghasil oksigen paling besar dibandingkan dengan jenis pohon. Bambu juga memiliki daya serap karbon yang cukup tinggi untuk mengatasi persoalan CO₂ di udara. Cepatnya pertumbuhan bambu

dibandingkan dengan pohon kayu, juga membuat bambu dapat diunggulkan untuk deforestasi (Cahyanto et al., 2016). Peningkatan penggunaan beberapa jenis bambu menyebabkan tanaman bambu tereksploitasi secara tidak terkendali tanpa diimbangi dengan tindakan pembudidayaan. Eksploitasi secara berlebihan dan erosi genetik pada spesies bambu menjadi alasan pentingnya pengumpulan data plasma nutfah untuk tujuan konservasi, keperluan klasifikasi, dan identifikasi bambu (Annisa et al., 2017). Pelestarian plasma nutfah bambu bisa dilakukan secara in-situ yaitu dalam habitat aslinya maupun ex-situ melalui pembangunan areal konservasi sumber daya genetik. Sumberdaya genetik adalah substansi yang terdapat dalam kelompok makhluk hidup dan merupakan sumber sifat keturunan yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan atau dirakit melalui kegiatan pemuliaan tanaman untuk menciptakan jenis unggul atau kultivar baru.

Balai Perbenihan Tanaman Hutan Wilayah II sebagai salah Unit Pelaksana Teknis (UPT) Dirjen Pengelolaan DAS dan Hutan Lindung Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, pada Tahun 2016 telah membangun Areal konservasi Sumber Daya Genetik (ASDG) Bambu di Kelurahan Lanna, Kecamatan Parangloe, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan. ASDG bambu dibangun dalam rangka mendukung pemuliaan tanaman hutan dan mendukung pengembangan 10 juta pohon bambu di Provinsi Sulawesi Selatan.

Bambu khususnya di Indonesia memiliki jenis yang sangat banyak sehingga perlu diidentifikasi karakter morfologi dan disesuaikan dengan studi filogenetik untuk mendapatkan konfirmasi spesies yang benar. Studi filogenetik terhadap bambu dapat dilakukan melalui studi morfologi dan molekuler. Studi filogenetik dengan data morfologi sangat mudah dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan lebih subjektif sehingga karakter morfologi ini memiliki ketidakkonsistenan sedangkan pada data molekuler menyediakan karakter dalam jumlah besar. Karakter morfologi yang telah lama digunakan dalam banyak penelitian filogenetik sangat mudah dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan data lebih subjektif.

Identifikasi bambu melalui morfologi dan molekuler akan membantu penentuan spesies yang akan dikonservasi, serta meningkatkan pemahaman pemanfaatan taksonomi dan asal mula evolusi suatu spesies (Annisa et al., 2017). Karakterisasi tanaman bambu berperan dalam kegiatan konservasi plasma nutfah serta pemanfaatannya bagi masyarakat. Informasi tentang hubungan kekerabatan plasma nutfah bambu penting untuk mengetahui spesies bambu yang potensial sebagai bahan hibridisasi maupun program seleksi (Fitriana et al., 2017).

Penelitian sebelumnya terkait analisis kekerabatan pada sembilan aksesori bambu di Pulau Selayar berdasarkan 24 karakter vegetatif. Hasil penelitian yang ditampilkan dalam bentuk dendrogram menunjukkan pemisahan yang jelas antar spesies *Bambusa*, *Dendrocalamus*, dan *Gigantochloa*. Namun belum dapat memisahkan spesies *Schizostachyum*

dan juga belum dapat memisahkan *Dendrocalamus* dan *Gigantochloa* dari Genus *Bambusa*. Untuk itu penelitian lebih lanjut menggunakan karakter morfologis yang lebih banyak atau menggunakan karakter lain, sangat diperlukan seperti karakter anatomis, mikromorfologis, penanda molekular, maupun sekuen DNA region tertentu (Liana et al., 2019). Keterbatasan penanda morfologi ini mendorong perkembangan penanda lain yang dapat langsung mengakses ke bagian material yang mengendalikan karakter atau ciri suatu individu yaitu yang dikenal dengan penanda molekular DNA (K. Semagn et al., 2006).

Identifikasi morfologi dan molekular diperlukan sebagai informasi dasar untuk proses hibridisasi dan seleksi. Identifikasi morfologi dilakukan berdasarkan karakter morfologi. Sementara itu, identifikasi molekular dapat dinilai menggunakan barcode DNA. Sangat penting bahwa variasi molekular pada tanaman bambu memiliki beberapa efek pada amplifikasi PCR penanda barcode. Karakter morfologi cenderung tidak stabil karena dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga diperlukan pendekatan secara molekular untuk mendapatkan informasi yang tidak dipengaruhi lingkungan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini perlu dilaksanakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan/filogenetik bambu di ASDG BPTH Wilayah II melalui identifikasi morfologi dan molekular sehingga nantinya dapat digunakan sebagai database dalam menunjang program pemuliaan tanaman, konservasi dan penyediaan informasi bambu.

B. Rumusan Masalah

Analisis hubungan kekerabatan berdasarkan karakter morfologi merupakan analisis yang relatif lebih mudah dan efisien. Metode analisis ini sudah bisa melihat tingkat kekerabatan tanaman berdasarkan karakter morfologi yang merupakan tampilan dari genetiknya namun tidak seakurat hasil analisis menggunakan marka molekuler. Dengan demikian peneliti membatasi fokus penelitian pada 2 (dua) hal untuk menjawab permasalahan terkait yaitu :

1. Bagaimana hubungan kekerabatan (filogenetik) empat jenis bambu koleksi ASDG Bambu BPTH Wilayah II berdasarkan karakter morfologi
2. Bagaimana hubungan kekerabatan (filogenetik) empat jenis bambu tersebut berdasarkan molekuler/hasil sekuensing DNA.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menganalisis hubungan kekerabatan (filogenetik) empat jenis bambu koleksi ASDG BPTH Wilayah II berdasarkan karakter morfologi.
2. Menganalisis hubungan kekerabatan (filogenetik) empat jenis bambu koleksi ASDG BPTH Wilayah II berdasarkan molekuler/hasil sekuensing DNA.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan :

1. Manfaat Akademis : memberikan informasi ilmiah mengenai identitas karakteristik dan hubungan kekerabatan (filogenetik) bambu yang ada di lokasi ASDG Bambu BPTH Wilayah II sehingga nantinya dapat dimanfaatkan untuk studi/penelitian selanjutnya dalam bidang pemuliaan tanaman dan pelestarian plasma nutfah.
2. Manfaat Praktis : sebagai dasar untuk BPTH Wilayah II dalam menentukan tindakan pemuliaan tanaman bambu dan pengembangan plasma nutfah bambu di areal SDG kedepannya.

E. Ruang Lingkup Penelitian

1. Penelitian dilakukan di lokasi ASDG BPTH Wilayah II dan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Pengamatan karakter morfologi dan penelitian molekuler dilakukan pada 4 jenis bambu yaitu bambu Bulo (*Schizostachyum lima* (Blanco) Merril), Parring (*Gigantochloa atter* (Hassk) Kurz), Tallang (*Schizostachyum brachycladum* Kurz), dan Hitam (*Gigantochloa atroviolaceae* Widjaja) untuk mengetahui hubungan kekerabatannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sistematika dan Klasifikasi Bambu

Tumbuhan bambu diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Kelas : Monocotyledoneae

Ordo : Graminales

Famili : Poaceae

Sub Famili: Bambusoideae

Bambu merupakan jenis tumbuhan yang mayoritas tumbuh merumpun, meskipun demikian bambu juga dapat tumbuh sebagai batang soliter atau perdu. Tumbuhan bambu yang tumbuh subur di Indonesia merupakan tumbuhan bambu yang memiliki *rhizome simpodial*, sehingga batang-batangnya cenderung mengumpul di dalam rumpun karena percabangan *rhizome* atau rimpangnya di dalam tanah cenderung mengumpul. Bambu banyak tumbuh di daerah tropis, membentuk rumpun kecil berkelompok. Pertumbuhan bambu relatif cepat dan berkembang secara maksimal pada musim penghujan, pada umur 4-6 bulan

pertumbuhan bambu sangat pesat, bisa mencapai 7 cm per hari. Proses perkayuan dicapai pada umur 2-5 tahun, bambu disebut tua atau masak bila berumur 6-7 tahun.

Bambu berasal dari subfamili *Bambusoideae* merupakan satu dari 12 subfamili yang masuk ke dalam famili *Poaceae* atau rumput-rumputan (L.G. Clark et al., 2015). Tumbuhan bambu merupakan jenis rumput-rumputan yang umumnya tumbuh merumpun. Walaupun tumbuhan bambu umumnya tumbuh merumpun, tumbuhan bambu juga dapat tumbuh sebagai batang soliter atau perdu. Secara umum, tumbuhan bambu memiliki batang bulat (teres), berbuku-buku, beruas-ruas berongga, berdinging keras, dan pada setiap buku terdapat mata tunas atau cabang. Arah pertumbuhan pada umumnya tegak (erektus), namun ada yang arah pertumbuhannya memanjat dan batangnya mengayu. Jika sudah tinggi, ujungbatang bambu dan daun-daunya terlihat agak menjuntai (Hingmadi, 2012).

Sistematika dan klasifikasi masing-masing sampel bambu yang diteliti adalah sebagai berikut :

1. Bambu Bulo (*Schizostachyum lima* (Blanco) Merr.)

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio: Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Poales
Famili : Poaceae
Genus : Schizostachyum
Spesies : *Schizostachyum lima* (Blanco) Merr.

2. Bambu Parring (*Gigantochloa atter* (Hassk) Kurz)

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Poales
Famili : Poaceae
Genus : Gigantochloa
Spesies : *Gigantochloa atter* (Hassk.) Kurz

3. Bambu Tallang (*Schizostachyum brachycladum* Kurz)

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Poales
Famili : Poaceae
Genus : Schizostachyum

Spesies : *Schizostachyum brachycladum* Kurz

4. **Bambu Hitam** (*Gigantochloa atroviolaceae* Widjaja)

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

SubDivisio : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Poales

Famili : Poaceae

Genus : *Gigantochloa*

Spesies : *Gigantochloa atroviolacea* Widjaja

Di Indonesia sendiri dikenal ada 10 genus bambu, antara lain *Arundinaria*, *Bambusa*, *Dendrocalamus*, *Dinochloa*, *Gigantochloa*, *Melocanna*, *Nastus*, *Phyllostachys*, *Schizostachyum* dan *Thyrsostachys*. Tumbuhan bambu mempunyai batang berbentuk buluh, beruas, berbuku-buku, berongga, mempunyai cabang, berimpang dan mempunyai daun buluh yang menonjol. Bambu ialah nama bagi kumpulan rumput-rumputan berbentuk perdu yang melempeng, dengan batang-batanganya yang biasanya tegak, kadang memanjat, mengayu dan bercabang-cabang, dapat mencapai umur panjang yaitu 40–60 tahun (Cahyanto et al., 2016).

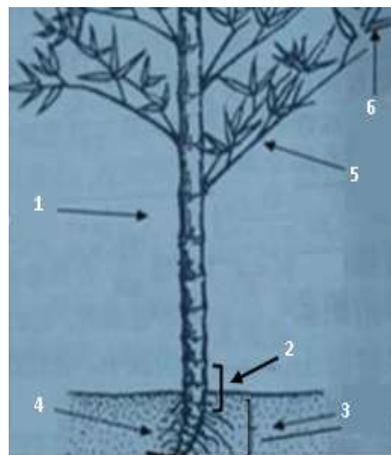
B. Karakter Morfologi Bambu

Struktur bambu memiliki bentuk-bentuk yang unik, seperti batang, daun, akar, serta pertumbuhan tunas atau rebung dalam sistem perkembangbiakannya. Batang bambu berbentuk silinder yang beruas-ruas dengan rongga di dalamnya. Batangnya tumbuh dari akar-akar rimpang ketika tanaman mulai menuai. Batang bambu bersifat lentur, serta terdiri dari serat-serat yang kuat. Batang bambu ditumbuhi oleh daun-daun yang muncul pada ruas-ruas batang. Daun ini disebut pelepah dan akan mengering dan gugur ketika bambu mulai menua. Pada bagian pelepah bambu terdapat subang, yaitu perpanjangan dari batang yang bentuknya seperti segitiga. Secara umum, bambu tumbuh sekitar 0,3 meter hingga 30 meter dengan diameter batang sekitar 0,25 sampai 25 cm. Ketebalan dinding bambu berukuran sekitar 2,5 cm.

Bambu memiliki daun yang lengkap, yaitu terdiri dari pelepah daun, helaian daun, serta tangkai daun. Daunnya adalah jenis pertulangan sejajar, yakni ada satu tulang daun berukuran besar yang berada di tengah dan tulang daun kecil disekitarnya yang tersusun secara sejajar. Ujung daun bambu berbentuk runcing, rata pada bagian tepi, berbentuk lanset, serta teksturnya mirip kertas. Permukaan daun bambu bagian atas berwarna hijau terang dan bagian bawahnya berwarna hijau lebih gelap dengan bulu-bulu kasar.

Sistem perakaran pada setiap bambu dapat berbeda-beda. Percabangan akar bambu merupakan akar rimpang yang berbentuk lebar pada bagian ujung dibanding pada bagian pangkal. Akar bambu berbentuk meruncing ke arah pangkal dan pada tiap ruas terdapat akar dan kuncup.

Kuncup pada bagian akar akan berkembang dan tumbuh menjadi rebung, kemudian tumbuh menjadi buluh baru. Rebung adalah tunas bambu yang muncul dari dasar rumpun atau berasal dari kuncup akar rimpang bambu yang telah tua. Menurut (L.G. Clark et al., 2015), secara umum tumbuhan bambu memiliki bagian-bagian seperti pada Gambar 1 berikut.



Keterangan:

1. Buluh
2. Pangkal/ bongkot
3. Rimpang
4. Rambut akar
5. Cabang
6. Helai daun

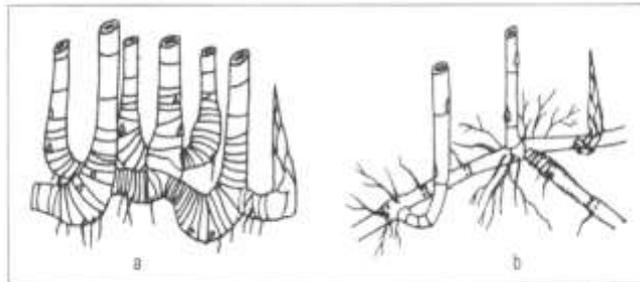
Gambar 1. Bagian-bagian bambu (L.G. Clark et al., 2015)

Karakter morfologi bambu yang sering diamati antara lain :

1. Rimpang

Rimpang bambu dapat digunakan untuk membedakan genus bambu (Widjaja, 2001). Rimpang/akar berada di tanah dan membentuk sistem percabangan yang dapat dipakai untuk membedakan kelompok bambu. Pangkal rimpang bambu memiliki ukuran yang lebih sempit daripada ujungnya dan setiap ruas mempunyai kuncup dan akar. Kuncup pada rimpang akan tumbuh menjadi rebung dan akhirnya menghasilkan buluh (Widjaja, 1997).

Tipe rimpang ada 2 tipe, yaitu rimpang simpodial dan monopodial. Rimpang simpodial mempunyai buluh yang dekat dengan leher rimpang yang pendek, memiliki bentuk yang bervariasi. Sedangkan rimpang monopodial buluh terpisah dengan leher rimpang yang panjang (Widjaja dan Kartikasari, 2001).

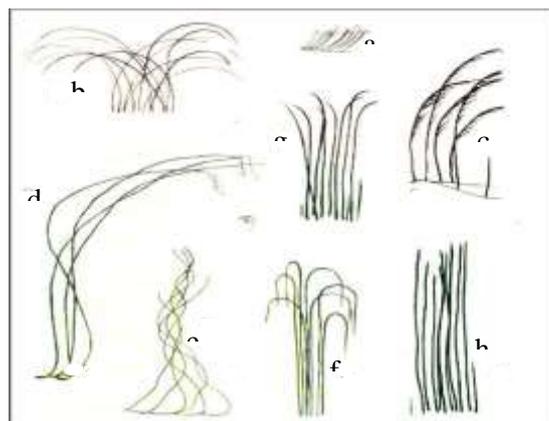


Gambar 2. Akar rimpang: a. Simpodial; b. Monopodial (Widjaja, 2001)

2. Buluh

Buluh bambu memiliki buku-buku buluh, pada buku buluh terdapat mata tunas. Pada buluh bambu terdapat pelepah buluh yang menyelimutinya, biasanya pelepah buluh mulai gugur ketika buluh sudah

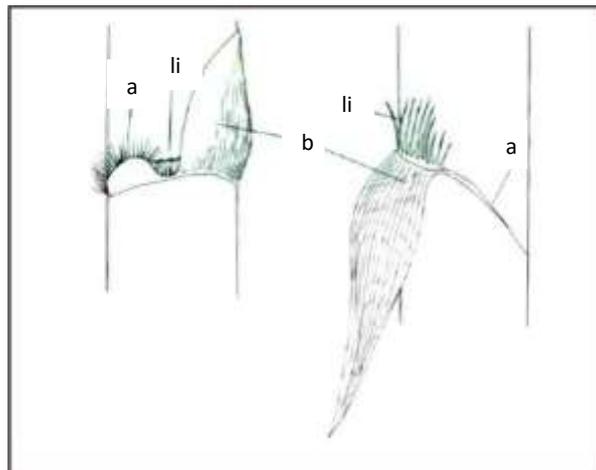
tua. Buluh mulai berkembang dari rebung, pertumbuhannya sangat cepat. Beberapa jenis bambu mempunyai diameter buluh yang berbeda. Jenis bambu yang mempunyai diameter buluh terbesar yaitu *Dendrocalamus asper*, sementara *Schizostachyum brachycladum* buluh berdiameter kecil (Widjaja, 2001). Buluh bambu pada umumnya tegak, ada juga yang tumbuhnya merambat seperti genus *Dinochloa*, dan ada yang tumbuh serabutan misalnya *Nastus*. Buluh bambu biasanya silinder dan berlubang, kecuali pada *Chimonobambusa quadrangularis* yang mempunyai buluh menyegiempat. Sedangkan jenis *Schizostachyum caudatum* mempunyai buluh tidak berlubang (Widjaja dan Kartikasari, 2001). Buku-buku pada buluh bagian pangkal tertutup oleh akar udara seperti pada jenis *Dendrocalamus asper*, ujung akar ini melengkung ke bawah, sedangkan pada genus *Dinochloa*, buku-bukunya sering ditutupi oleh lampang pelepah buluh yang sangat kasar (Widjaja, 2001).



Gambar 3. Tipe-tipe buluh bambu ; (a) tipe miring, (b) tipe *scrambling* (c) tipe miring dan *monopodial* (d) tipe merebah (e) tipe merambat atau menjalar (f) tipe tegak dengan ujung melengkung ke bawah (g) tipe tegak dengan ujung sedikit bengkok, dan (h) tipe tegak dari pangkal sampai ujung.

3. Pelepah Buluh

Batang bambu yang sudah tua, pada umumnya berongga dan keras, berbentuk silinder, memanjang dan terbagi dalam ruas-ruas. Bagian batang terdapat organ-organ daun yang menyelimuti batang yang disebut dengan pelepah batang. Biasanya pada batang yang sudah tua pelepah batangnya mudah gugur. Ujung pelepah batang terdapat perpanjangan tambahan yang berbentuk segi tiga dan disebut subang yang biasanya gugur terlebih dulu (Widjaja & Kartikasari, 2001). Berikut letak dan morfologi dasar dari daun pelepah, aurikel atau kuping pelepah, dan ligula pada pelepah buluh adalah seperti pada Gambar 4.



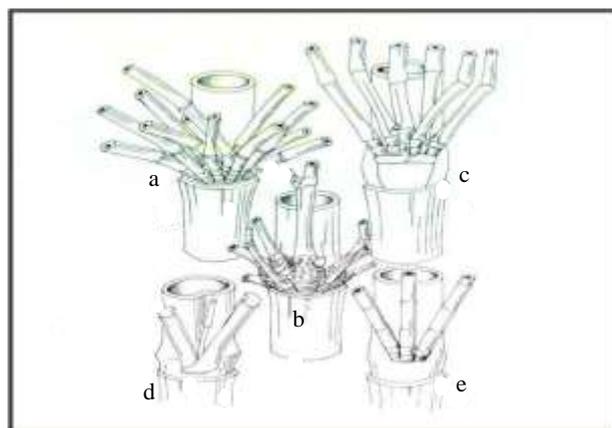
Gambar 4. Letak dan morfologi dasar dari pelepah buluh beserta bagian- bagiannya: (a) aurikel, (b) daun pelepah buluh, (li) ligula (Widjaja, 1997)

Pelepah buluh pada bambu merupakan hasil modifikasi daun yang menempel pada setiap ruas, yang terdiri atas daun pelepah buluh, kuping pelepah buluh dan ligulanya terdapat sambungan antara pelepah daun dan pelepah buluh. Pelepah buluh sangat berperan penting terutama ketika

masih muda. Buluh tumbuh dewasa dan tinggi, pada beberapa jenis bambu pelepahnya lurus, tetapi pada jenis lain ada pula yang pelepahnya tetap menempel pada buluh tersebut, seperti pada jenis bambu talang (*Schizostachyum brachycladum*) (Widjaja, 2001).

4. Percabangan

Umumnya percabangan berada di atas buku-buku. Cabang dapat digunakan sebagai ciri penting untuk membedakan genus bambu. Pada genus *Bambusa*, *Dendrocalamus* dan *Gigantochloa* sistem percabangan mempunyai satu cabang yang lebih besar daripada cabang lainnya yang lebih kecil. Buluh *Dinochloa* biasanya mempunyai cabang yang dorman dan akan sebesar buluh induknya, terutama ketika buluh utamanya terpotong. Jenis-jenis dari genus *Schizostachyum* mempunyai cabang yang sama besar (Widjaja, 2001).



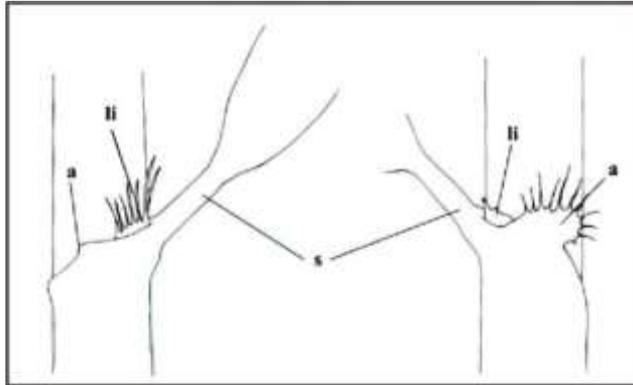
Gambar 5. Pola percabangan yang menunjukkan ciri marga: (a) *Schizostachum*, (b) *Bambusa*, *Dendrocalamus*, dan *Gigantochloa*, (c) *Holttumochloa*, (d) *Phyllotachys*, (e) *Chimonobambusa* (Widjaja, 1997).

5. Daun dan Pelepah Daun

Daun bambu merupakan daun lengkap karena memiliki bagian-bagian seperti pelepah daun, tangkai daun dan helaian daun. Bangun daun berbentuk lanset, ujung daunnya meruncing, pangkal daun tumpul, tepi daun rata, dan daging daun seperti kertas. Pertulangan daun bambu sejajar, yaitu mempunyai satu tulang ditengah yang besar sedangkan tulang-tulang yang lainnya lebih kecil dan tampak sejajar dengan ibu tulang daun. Permukaan daun bagian atas berbulu kasar, bagian atas daun berwarna hijau cerah sedangkan permukaan bagian bawahnya berwarna hijau gelap (Widjaja, 2001). Daun bambu mempunyai urat yang sejajar, setiap daun mempunyai tulang daun utama yang menonjol. Mempunyai daun yang lebar tetapi ada juga yang kecil dan sempit seperti *Bambusa multiplex*. Helai daun dihubungkan oleh tangkai daun yang berukuran panjang atau pendek (Widjaja, 2001). Permukaan daun bagian atas atau bawah dilapisi bulu lebat pada *Schizostachyum silicatum* (Widjaja, 1997).

Pelepah daun dilengkapi dengan kuping dan ligula. Kuping pelepah daun mungkin besar tetapi bisa juga kecil/tidak tampak dan pada beberapa jenis bambu ada yang bercuping besar dan melipat keluar. Pada beberapa jenis bambu, kuping pelepah daunnya mempunyai bulu kejur panjang, tetapi juga ada yang gundul. Ligula pada beberapa jenis mungkin panjang tetapi bisa juga kecil dengan bulu kejur panjang atau tanpa bulu kejur. Ligulanya kadang mempunyai pinggir yang menggerigi tidak teratur,

menggerigi, menggergaji atau rata (Widjaja, 2001). Berikut gambar dari morfologi pelepah daun bambu beserta bagian-bagiannya (Wong, 2004).



Gambar 6. Morfologi dasar pelepah daun bambu beserta bagian-bagiannya, (a): aurikel (kuping pelepah), (s): tangkai daun, (li): ligula (lidah pelepah) (Wong, 2004)

Bambu mempunyai karakter khusus untuk digunakan dalam menentukan ciri khas suatu jenis tumbuhan. Bagian penting dalam menentukan genus bahkan spesies adalah tipe akar rimpang, tipe tegakan buluh, bentuk percabangan, pola percabangan, pelepah buluh dan juga bunga. Seperti contoh pada sistem percabangan genus *Bambusa*, *Gigantochloa*, dan *Dendrocalamus* memiliki percabangan dengan cabang utama lebih besar dari cabang lainnya. Akan tetapi ada perbedaan pada letak muncul percabangannya yaitu pada genus *Bambusa* percabangan muncul pada buluh bagian bawah dekat atau di atas permukaan tanah. Pada genus *Gigantochloa* percabangan muncul di bagian tengah hingga atas buluh. Sedangkan pada genus *Dendrocalamus* percabangan muncul pada bagian tengah hingga atas buluh, buluh memiliki akar udara dari pangkal hingga tengah buluh. Sementara itu, jika percabangan sama besar

dan muncul di tengah hingga atas buluh dan buluhnya tegak yang melengkung di ujungnya maka termasuk genus *Schizostachyum*. Karakter khusus lainnya yang perlu diperhatikan yaitu rebung, pelepah buluh, daun serta pelepahnya dan juga perbungaan (Abrori, 2016). Selain itu (Widjaja, 2001), menambahkan bahwa kuping pelepah buluh merupakan ciri penting dalam mengetahui jenis bambu seperti pada genus *Bambusa* memiliki kuping pelepah buluh yang besar dan pada genus *Gigantochloa* mempunyai kuping pelepah buluh kecil dan berbulu kejur.

C. Karakterisasi Menggunakan Penanda Molekuler

Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. DNA merupakan sumber informasi genetik yang potensial dan akurat. DNA ditemukan dalam hampir semua sel semua organisme, baik pada jaringan hidup maupun yang mati. Ditambah lagi, jaringan tersebut dapat secara mudah disimpan di bawah kondisi lapangan. Penanda molekuler ini memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda morfologi, yaitu stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan (K. Semagn et al., 2006).

Menurut Semagn et al., (2006), definisi marka (penanda) molekuler adalah sekuen DNA yang dapat diidentifikasi, dan terdapat pada lokasi tertentu pada genom, dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi

berikutnya. Ibaratnya sebuah barcode, keberadaan marka molekular tersebut secara prinsip memiliki perbedaan, sehingga untuk memilih dan pengaplikasian harus dengan hati-hati. Definisi marka genetik merupakan gen yang terekspresi dan membentuk fenotip, biasanya mudah dibedakan, digunakan untuk identifikasi individu atau sel yang membawanya, atau sebagai probe untuk menandai inti, kromosom, atau lokus. Marka molekular adalah DNA yang teridentifikasi, ditemukan pada lokasi tertentu pada genom, diwariskan dari generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat (Reece & Haribabu, 2007). Sehingga dari beberapa pengertian tersebut dapat disimpulkan pengertian Marker molekular merupakan sekuen DNA yang teridentifikasi pada genom dan dapat diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya dengan mengikuti hukum pewarisan sifat. Marker molekular pada aplikasinya sangatlah beragam, sehingga untuk memilih Marka molekular harus disesuaikan dengan organisme yang akan diteliti dan pada DNA mana yang akan dianalisis sekuennya. Marker molekular dapat diaplikasikan pada beberapa genom DNA yang terdapat pada nukleus, mitokondria, kloroplas, atau organel lain.

Penanda molekular DNA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu, pertama penanda DNA tanpa PCR (*non-PCR based techniques*) seperti RFLP, kedua penanda DNA berdasarkan PCR yang meliputi RAPD, AFLP, SSR, CAPS, SCAR, SSCP dan DNA *Barcoding*. Sejak ditemukan teknologi PCR oleh Mullis dan Faloona (1987), penanda molekular DNA berkembang

pesat dan diaplikasikan pada berbagai bidang, baik yang menggunakan primer acak yang tidak memerlukan informasi sekuen DNA maupun yang memerlukan informasi sekuen DNA, hal ini karena kecepatan, efisiensi dan kesuksesan dalam mendeteksi berbagai tipe variasi DNA yang tinggi (Zulfahmi, 2013).

Menurut Handoyo & Rudiretna (2001) Polymerase Chain Reacton (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Dengan diketemukannya teknik PCR di samping juga teknik-teknik lain seperti sekuensing DNA, telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya di bidang diagnosa penyakit genetik, kedokteran forensik dan evolusi molekular.

1. DNA *Barcoding*

DNA barcoding merupakan salah satu metode taksonomi yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu organisme dengan penanda genetik tertentu sehingga mengacu pada satu penamaan spesies (de Lima et al., 2018). Proses DNA Barcoding, gen tertentu dapat digunakan sebagai marker dalam pembagian genetik spesies dan rekonstruksi filogenetik.

DNA *barcoding* merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi organisme dengan

menggunakan potongan gen tertentu. DNA *barcoding* dapat digunakan oleh ahli taksonomi dengan cepat dan relatif murah untuk mengidentifikasi spesies yang sulit dilakukan secara morfologi.

DNA *barcoding* dapat digunakan untuk dua tujuan, yaitu sebagai perangkat baru untuk membantu para ahli taksonomi yang biasa bekerja pada spesimen-spesimen yang sulit diidentifikasi dan merupakan perangkat inovatif bagi yang bukan ahli taksonomi dan untuk mengidentifikasi tanaman secara cepat.

Metode DNA *barcoding* ini diawali dengan tahap isolasi DNA total, dilanjutkan dengan tahap amplifikasi gen standar ribulosa-1, 5-bifosfat karboksilase (*rbcL*) atau maturase K (*matK*) menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan tahap sekuensing untuk mengidentifikasi sekuens DNA barcode pada tumbuhan (Hollingsworth, 2011).

Identifikasi tanaman yang dilakukan secara morfologi, dilengkapi dengan adanya penggunaan data DNA tentu akan menghasilkan identifikasi tanaman yang lebih akurat untuk mengidentifikasi kemurnian produk biologi (Turner et al., 2013).

2. Ribulosa-1,5-bifosfat karboksilase (*rbcL*) dan Maturase K (*matK*)

Consortium for the Barcode of Life (CBOL) merekomendasikan penargetan dua lokus dalam genom kloroplas untuk DNA *barcoding* yaitu ribulosa-bisphosphate carboxylase (*rbcL*) gen dan gen *matK*. Penanda

kloroplastik *rbcL* dan *matK* adalah penanda pertama DNA barcoding untuk tanaman (Stevanus & Pharmawati, 2021). Gen standar ini digunakan untuk mempelajari keanekaragaman genetik tumbuhan berdasarkan sekuens DNA-nya. Gen *matK* lebih banyak digunakan dibandingkan dengan gen *rbcL* dalam berbagai penelitian karena gen *matK* dapat membedakan sampai tingkat spesies (Barthet, 2006). Perbedaannya gen *matK* lebih sulit diamplifikasi tetapi memberikan resolusi yang lebih tinggi dalam membandingkan spesies tumbuhan, sedangkan gen *rbcL* lebih mudah diamplifikasi akan tetapi resolusinya rendah untuk dapat membedakan beberapa spesies yang berkerabat dekat. Konfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen dilakukan dengan visualisasi dengan elektroforesis. Fragmen gen yang berhasil diamplifikasi akan dianalisis untuk sekuensing DNA (Hollingsworth, 2011).

Gen *rbcL* merupakan plastid pengkode yang paling banyak disimpan dalam GenBank. Data sekuen *rbcL* banyak digunakan untuk tingkatan taksonomi yang lebih tinggi (suku ke atas). Sekuen *rbcL* juga umum digunakan untuk mengetahui hubungan antar marga bahkan antar jenis pada tumbuhan paku (Soltis & Soltis, 1997). Gen *rbcL* telah digunakan secara ekstensif untuk menduga filogeni tanaman termasuk sejumlah jenis *Gymnospermae*. Tetapi beberapa studi memperlihatkan urutan coding ini terkadang untuk menjelaskan hubungan antar taksa tanaman (Ramadhani, 2017).

Gen *matK* memiliki tingkat evolusi yang tinggi dan urutan sekuen yang lebih bervariasi sehingga gen *matK* dianggap lebih baik dan lebih akurat dalam membedakan dan mengidentifikasi suatu jenis (Kolondam et al., 2012). *MatK* dapat mengamplifikasi gen pada DNA kloroplas (cpDNA). Gen kloroplas *matK* sebagian besar merupakan variabel gen *coding* dari *Angiospermae* dan telah diusulkan untuk menjadi barcode pada tanaman (Yu et al., 2011). Gen *matK* digunakan sebagai gen pengkode yang disepakati untuk barcode DNA sejak tahun 2003 dan telah diuji melalui beberapa penelitian.

3. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA merupakan adalah proses penentuan urutan dari basa A, T, G dan C dalam sepotong DNA. Pada intinya, DNA digunakan sebagai cetakan untuk menghasilkan serangkaian fragmen yang panjangnya berbeda satu sama lain oleh satu basa. Fragmen kemudian dipisahkan berdasarkan ukuran dan basis di akhir identifikasi menciptakan urutan asli DNA. Keuntungan utama dari sekuensing DNA ini adalah keakuratan dan ketelitiannya yang mencapai lebih dari 98% (Ramadhani, 2017).

Aplikasi utama dari sekuensing DNA dalam studi sistematik adalah evolusi gen, termasuk studi dari proses yang menghasilkan level variasi sekuens (urutan basa), studi asal muasal alel baru atau lokus baru serta

investigasi pemusatan (*convergence*) dan seleksi. Studi intraspesifik populasi, termasuk pelacakan organisme dan genealogi alel dalam spesies dan variasi geografik, aliran gen (*gen flow*), hibridasi, dan konservasi genetika; studi interspesifik populasi seperti rekonstruksi filogenetik untuk mengevaluasi pola dan proses evolusi makro (Hillis et al., 1996).

Data hasil sekuensing yang sudah dianalisis kemudian dimasukkan ke GenBank seperti BOLD, NCBI, DDBJ serta EBI. Output dari proses ini adalah informasi lengkap mengenai spesies (data morfologi, taksonomi dan pendukung) yang kita masukkan bila spesies yang kita input sudah terdapat datanya di sistem (Thompson et al., 1994).

D. Studi Filogenetik

Keragaman genetik suatu populasi dapat diukur dengan alat berupa penanda genetik (*genetic marker*). Karakter genetik yang dapat diamati menggunakan penanda genetik pada tingkat morfologi dan molekuler. Penanda morfologi didasarkan pada variasi morfologi dimana faktor lingkungan juga berperan dalam menentukan keragaman genetik suatu populasi. Penanda molekuler didasarkan pada variasi asam nukleat dimana pengamatannya langsung pada bagian DNA. Penanda biokimia didasarkan pada variasi protein atau enzim yang merupakan hasil ekspresi dari DNA. Kedua penanda ini memerlukan sampel jaringan tanaman untuk kemudian dilakukan ekstraksi bagian DNA atau protein atau enzim

(Direktorat PTH, 2015).

Pesatnya perkembangan teknik-teknik di dalam biologi molekuler, seperti PCR (polymerase chain reaction) dan sekuensing DNA, penggunaan sekuen DNA dalam penelitian filogenetika telah meningkat pesat dan telah dilakukan pada semua tingkatan taksonomi, misalnya famili, marga, dan species. Filogenetika molekuler mengkombinasikan teknik biologi molekuler dengan statistik untuk merekonstruksi hubungan filogenetika.

Pendekatan melalui marka molekular telah digunakan secara luas untuk analisis kekerabatan tumbuhan. Karakter molekuler lebih efektif dan memberikan data yang lebih akurat terhadap karakter-karakter yang ada (Ika H M et al., 2018). Analisis kekerabatan tumbuhan dapat menggunakan karakter molekular berupa sekuan DNA yang dapat mengatasi kelemahan data morfologi yang diketahui memiliki keterbatasan dan cenderung dipengaruhi lingkungan.

Menurut Hidayat dan Pancoro (2008) filogenetika merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dalam sistematika untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (*phylogenetic relationship*) yang didasarkan pada kekerabatan hubungan nenek moyang antara spesies atau kelompok spesies. Sistem klasifikasi ini sangat penting untuk digunakan dalam penelusuran kekerabatan diantara berbagai takson yang ada untuk memahami

keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (Soltis et al., 1992).

Sekuen DNA telah menarik perhatian para praktisi taksonomi dunia untuk dijadikan karakter atau objek dalam penelitian filogenetik. DNA mengandung informasi mengenai proses evolusi suatu kelompok organisme, sehingga mudah untuk dianalisis (Hillis et al., 1996). Sekuen DNA juga menyediakan banyak karakter karena perbedaan laju perubahan basa-basa nukleotida di dalam lokus yang berbeda adalah besar. Selain itu, sekuen DNA telah terbukti menghasilkan sebuah hubungan kekerabatan yang lebih alami (Chase et al., 1993).

Pemikiran dasar penggunaan sekuen DNA dalam studi filogenetika adalah bahwa terjadi perubahan basa nukleotida menurut waktu, sehingga akan dapat diperkirakan kecepatan evolusi yang terjadi dan akan dapat direkonstruksi hubungan evolusi antara satu kelompok organisme dengan yang lainnya. (Hillis et al., 1996), mengemukakan bahwa penggunaan sekuen DNA dalam studi filogenetika adalah bahwa terjadi perubahan basa nukleotida menurut waktu, sehingga akan dapat diperkirakan kecepatan evolusi yang terjadi dan akan dapat direkonstruksi hubungan evolusi antara satu kelompok organisme dengan yang lainnya. Beberapa alasan penggunaan sekuen DNA, yaitu (1) DNA merupakan unit dasar informasi yang mengkode organisme, (2) lebih memudahkan dalam mengekstrak dan menggabungkan informasi mengenai proses evolusi suatu kelompok organisme, sehingga mudah untuk dianalisis, (3) memudahkan dalam

pembuatan model dari peristiwa evolusi secara komparatif, dan (4) menghasilkan informasi yang banyak dan beragam, dengan demikian akan ada banyak bukti tentang kebenaran suatu hubungan filogenetika.

Sumber karakter DNA dapat diperoleh dari inti (nDNA), kloroplas (cpDNA), dan mitokondria (mtDNA). Analisis filogenetika molekuler merupakan proses bertahap untuk mengolah data sekuen DNA atau protein sehingga diperoleh suatu hasil yang menggambarkan estimasi mengenai hubungan evolusi suatu kelompok organisme. Ada sejumlah asumsi yang harus diperhatikan sebelum menggunakan data sekuen DNA atau protein ke analisis, diantaranya yaitu (1) sekuen berasal dari sumber yang spesifik, apakah dari inti, kloroplas atau mitokondria; (2) sekuen bersifat homolog (diturunkan dari satu nenek moyang); (3) sekuen memiliki sejarah evolusi yang sama (misalnya bukan dari campuran DNA inti dan mitokondria); dan (4) setiap sekuen berkembang secara bebas.

Keberhasilan analisis filogenetika sangat tergantung kepada akurasi proses *alignment*. Saat ini, banyak program komputer tersedia secara gratis di internet untuk membantu proses *alignment*. Proses *alignment* sering menghasilkan adanya *gap*, yang ditandai oleh garis putus-putus. *Gap* terjadi karena adanya insersi dan atau delesi, *gap* bisa dianggap sebagai data yang hilang, walaupun dalam banyak kasus *gap* dapat dilibatkan dalam analisis karena bisa bersifat informatif.

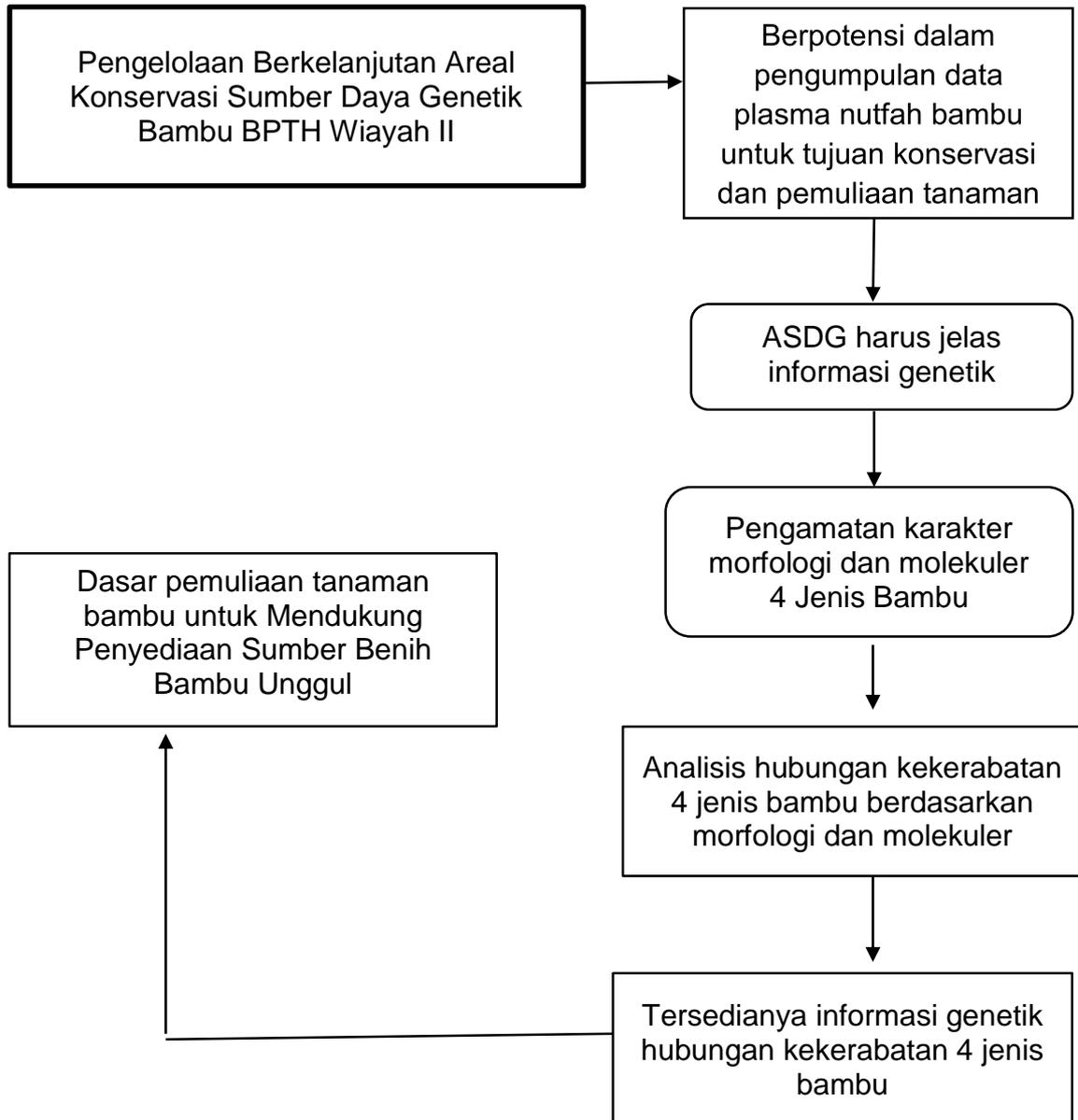
Studi filogenetika molekuler menjadikan setiap basa nukleotida (A,C,T,G), menjadi *site* tertentu yang equivalen dengan karakter, seperti

karakter lebar daun atau sifat permukaan batang ketika menggunakan data morfologi. Dengan pesatnya perkembangan teknik-teknik di dalam biologi molekuler, seperti Polymerase Chain Reaction (PCR) dan sequencing DNA, penggunaan sekuen DNA dalam penelitian filogenetik telah meningkat pesat dan telah dilakukan pada semua tingkatan taksonomi, misalnya famili, marga, dan spesies.

Sekuen DNA telah menarik perhatian para praktisi taksonomi dunia untuk dijadikan karakter dalam penelitian filogenetika karena beberapa fakta. Pertama, sekuen DNA menawarkan data yang akurat melalui pengujian homologi yang lebih baik terhadap karakter-karakter yang ada. Kedua, sekuen DNA menyediakan banyak *character states* karena perbedaan laju perubahan basa-basa nukleotida di dalam lokus yang berbeda adalah besar (Hillis et al., 1996). Ketiga, sekuen DNA telah terbukti menghasilkan sebuah hubungan kekerabatan yang lebih alami (Topik et al., 2005).

Identifikasi spesies berbasis sekuens DNA merupakan metode yang dianggap cepat, dapat dipertanggungjawabkan dan konsisten, sehingga penting dalam penelitian biologi konservasi dan keanekaragaman (Waugh, 2007). Analisis filogenetika molekuler merupakan proses bertahap untuk mengolah data sekuen DNA atau protein sehingga diperoleh suatu hasil yang menggambarkan estimasi mengenai hubungan evolusi suatu kelompok organisme.

E. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 7. Kerangka Pikir Penelitian