

**KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS
ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS
*SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagai dari syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi



Oleh:

Vini Ayuni

1900940

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
2023**

**KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS
ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS
*SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)***

Oleh:
Vini Ayuni

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi di Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Vini Ayuni 2023
Universitas Pendidikan Indonesia
Juli 2023

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian,
dengan dicetak ulang, difoto kopi atau cara lainnya tanpa ijin dari penulis

LEMBAR PENGESAHAN

**KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT JENIS
ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA BERDASARKAN ANALISIS
*SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)***

Disetujui dan disahkan oleh pembimbing

Pembimbing I



Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D.
NIP. 197004101997021001

Pembimbing II



Dr. Siti Sriyati, M.Si.
NIP. 196409281989012001

Pembimbing III



Rani Asmarayani, Ph.D.
NIP. 197901292005022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi FPMIPA UPI



Dr. Wahyu Surakusumah, M.T.
NIP. 197212301999031001

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Keanekaragaman Genetik Dan Kekerabatan Empat Jenis Endemik Piperaceae Di Kawasan Malesia Berdasarkan Analisis *Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP)*” ini beserta seluruh isinya adalah benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini saya siap menanggung resiko/sanksi apabila di kemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, Juli 2023

Yang membuat pernyataan

Vini Ayuni

NIM 1900940

KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa Allah swt. atas rahmat, dan karunia-Nya penulis telah dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Keanekaragaman Genetik Dan Kekerbatan Empat Jenis Endemik Piperaceae Di Kawasan Malesia Berdasarkan Analisis *Sequence-Related Amplified Polymorphism* (SRAP)”. Skripsi yang dibuat membahas mengenai gambaran penggunaan penanda genetik SRAP untuk mengetahui keanekaragaman genetik dan hubungan kekerabatan Piperaceae yang ada di Kawasan Malesia. Adapun maksud dan tujuan dari penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat untuk mengikuti sidang skripsi Program Studi Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Penulis menyadari selama penelitian dan penulisan skripsi ini banyak sekali hambatan dan kekurangan yang penulis alami, namun berkat bantuan, dorongan serta bimbingan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, baik berupa inspirasi maupun motivasi serta bagi pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun untuk dijadikan sebagai pembelajaran.

Bandung, Juli 2023

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih dengan segala hormat kepada:

1. Kepada Dr. Wahyu Surakusumah, M.T., selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Pendidikan Indonesia.
2. Bapak Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu dan pikirannya, selalu memberikan semangat, saran serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Ibu Siti Sriyati, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan saran, motivasi dan meluangkan waktu serta pikirannya untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi.
4. Ibu Rani Asmarayani, Ph.D., selaku pembimbing III yang telah memberikan pengalaman berharga bagi penulis untuk melakukan penelitian dengan segala fasilitas yang ada di BRIN, serta selalu membimbing dan memberikan saran saat penulisan skripsi.
5. Ibu Prof. Hj. RR. Hertien Koosbandiah Surtikanti, M.Sc., ES., Ph.D., selaku pembimbing akademik atas segala dan bantuannya selama perkuliahan dan penyusunan skripsi.
6. Seluruh Bapak dan ibu dosen biologi FPMIPA UPI yang telah memberikan ilmu kepada penulis selama masa perkuliahan.
7. Bu Susi, dan seluruh staff Laboratorium Sistem Molekuler BRIN yang membimbing penulis saat melakukan penelitian.
8. Kepada orangtua tercinta Ibu Atin Kartini dan Adik tersayang Azzam Rafansyah yang turut memberikan dukungan moral dan materi kepada penulis serta turut mendoakan yang terbaik untuk terselesaikannya skripsi ini.
9. Hasya Syarif sebagai orang berharga yang telah memberikan dorongan semangat dan motivasi kepada penulis.

10. Rekan seperjuangan dalam penelitian ini yaitu Fakhri Faturrohman, dan Ruth Meiraning Tyas yang selalu menjadi teman diskusi dan penyemangat yang dengan baik hati mendengarkan keluh kesah penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
11. Rekan seperjuangan saat melakukan magang yaitu Adillah Hafidza, Fadhilah Haifa, Syifa Indah, dan Ruth Meiraning Tyas yang turut memberikan support selama magang kepada penulis.
12. Tim Anggota grup Siapa Yang Apa yaitu Dina, Adinda, Atikah, Anisa (Icang), Marshanda, Syifa, Hafidza, dan Wulan yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama penulis menyelesaikan naskah skripsi ini.
13. Rekan Biologi C 2019 yang menjadi teman baik penulis selama masa perkuliahan.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan motivasinya.

**KEANEKARAGAMAN GENETIK DAN KEKERABATAN EMPAT
JENIS ENDEMIK PIPERACEAE DI KAWASAN MALESIA
BERDASARKAN ANALISIS SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED
POLYMORPHISM (SRAP)**

ABSTRAK

Kawasan Malesia merupakan kawasan geografi yang kaya akan flora dan fauna endemik. Salah satu tanaman endemiknya adalah dari keluarga Piperaceae yang masih banyak digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat herbal. Namun, belum banyak informasi yang terdokumentasikan mengenai data keranekaragaman genetiknya. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menganalisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan Piperaceae khususnya pada *Piper porphyrophyllum* N.E.Br., *P. decumanum* L., *P. celebicum* Blume, dan *P. cyrtostachys* Ridl. menggunakan *Sequence-related amplified polymorphism* (SRAP). Metode yang digunakan diawali dengan ekstraksi DNA, uji kuantitatif dan kualitatif DNA, seleksi komposisi PCR, seleksi pasangan primer, dan terakhir analisis data menggunakan NTsys 2.1. dan Popgene 3.2. Keragaman genetik yang dihasilkan adalah jumlah alel teramati (N_a), jumlah alel efektif (N_e), nilai *indeks informasi Shannon* (I), dan heterozigositas harapan (H). Jenis *P. cyrtostachys* memiliki keragaman genetik yang cukup lebih tinggi di antara jenis lainnya ($N_a=1.7674$, $N_e=1.2703$, $H=0.1820$, dan $I=0.2973$). *Piper celebicum* adalah jenis yang paling rendah keragaman genetiknya ($N_a=1.3721$, $N_e=1.0803$, $H=0.0595$, dan $I=0.1058$). Hubungan kekerabatan sejenis yang paling dekat adalah *P. cyrtostachys* yang mendekati nilai 1. Hubungan antarjenis yang paling jauh adalah jenis *P. celebicum* dan *P. cyrtostachys* (0.150). Temuan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa SRAP menunjukkan bahwa keragaman genetik *Piper* yang berada di wilayah Malesia Timur cenderung lebih rendah, sedangkan di Malesia Barat papada *P. cyrtostachys* memiliki keragaman genetik yang tinggi. Hubungan kekerabatan yang terjalin pun antara Malesia Barat dan Timur memiliki hubungan yang sangat jauh. Akan tetapi kekerabatan jenis yang paling dekat adalah pada *P. cyrtostachys* yang persebarannya sempit.

Kata Kunci : Malesia, Piperaceae, Keanekaragaman genetik, Filogenetika

**GENETIC DIVERSITY AND RELATIONSHIPS OF FOUR
PIPERACEAE ENDEMIC IN THE MALESIA REGION BASED ON
SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP)
ANALYSIS**

ABSTRACT

Malesia is a geographical area rich in endemic flora and fauna. One of the endemic plants is from Piperaceae family which is widely used by some Indonesian people as herbal medicinal plant. However, there is not much documented information regarding the data of its genetic diversity. The purpose of this study was to analyze the genetic diversity and kinship of the Piperaceae, especially in *Piper porphyrophyllum* N.E.Br., *P. decumanum* L., *P. celebicum* Blume, and *P. cyrtostachys* Ridl. using Sequence-related amplified polymorphism (SRAP). The research comprised DNA extraction, quantitative and qualitative DNA testing, PCR composition selection, primer pair selection, and data analysis using NTsys 2.1. and Popgene 3.2. The resulting genetic diversity is the number of observed alleles (N_a), the number of effective alleles (N_e), the Shannon information index value (I), and the expected heterozygosity (H). *Piper cyrtostachys* had quite high genetic diversity than the others ($N_a=1.7674$, $N_e=1.2703$, $H= 0.1820$, and $I= 0.2973$), while *P. celebicum* had the lowest ones ($N_a=1.3721$, $N_e=1.0803$, $H=0.0595$, and $I=0.1058$). The closest relationship was found in *P. cyrtostachys* which is close to 1. The most distant species relationship is between *P. celebicum* and *P. cyrtostachys* (0.150). The findings from this study can be concluded that the SRAP shows that the genetic diversity of *Piper* in the East Malesia region tends to be lower, while in West Malesia *P. cyrtostachys* has high genetic diversity. The kinship relationship that exists between West and East Malesia has a very distant relationship. However, the closest kind of relationship is *P. cyrtostachys*, which has a narrow distribution.

Keywords: Malesia, Piperaceae, Genetic Diversity, Phylogenetics

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Pertanyaan Penelitian	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Batasan Masalah.....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	6
1.7 Struktur Organisasi Skripsi.....	6
BAB II Piperaceae Kawasan Malesia dengan Penanda Genetik <i>Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP)</i>	9
2.1 Keanekaragaman Genetik.....	9
2.2 Sistematika dan Filogenetika.....	11
2.3 Botani Piperaceae	14

2.3.1	<i>Piper porphyrophyllum</i> N.E.Br.....	16
2.3.2	<i>Piper decumanum</i> L.	17
2.3.3	<i>Piper celebicum</i> Blume	18
2.3.4	<i>Piper cyrtostachys</i> Ridl.	19
2.4	<i>Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP)</i>	20
2.5	Wilayah Malesia	29
2.6	Endemik.....	30
BAB III METODE PENELITIAN		33
3.1	Jenis Penelitian	33
3.2	Sampel Penelitian	33
3.3	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	35
3.4	Prosedur Penelitian	35
3.4.1	Tahap Persiapan	36
3.4.2	Tahap Penelitian.....	36
3.5	Alur Penelitian.....	43
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN		45
4.1	Temuan Keanekaragaman Genetik.....	45
4.1.1	DNA Genom	45
4.1.2	Seleksi komposisi PCR dan Primer	46
4.1.3	Keragaman Genetik.....	53
4.2	Temuan Hubungan Kekerbatan	54
4.2.1	Pohon Filogenetika	55
4.3	Pembahasan	57
4.3.1	Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Hasil Ekstraksi	57
4.3.2	Seleksi komposisi PCR dan Primer	59

4.3.3	Keanekaragaman Genetik Populasi Sampel.....	61
4.3.4	Analisis Data Hubungan Kekerbatan	63
BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI		68
5.1	Simpulan.....	68
5.2	Implikasi	68
5.3	Rekomendasi	68
DAFTAR PUSTAKA		70
LAMPIRAN.....		83

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Perbedaan keunggulan dan kekurangan penanda genetik.....	30
Tabel 3.1. Sampel dan aksesori nomor <i>Piper</i> spp. dari kawasan Malesia.....	33
Tabel 3.2. Komposisi bahan PCR 1 dan PCR 2 menggunakan <i>Promega GoTaq Flexi DNA Polymerase</i> (M8295).....	40
Tabel 3.3. Komposisi bahan PCR 3 menggunakan <i>Meridian MyTaqTM HS Mix</i> (BIO-25045).....	40
Tabel 3.4. Kombinasi seleksi primer yang digunakan pada penelitian ini.....	40
Tabel 4.1. Kemurnian dan konsentrasi DNA yang didapatkan.....	45
Tabel 4.2. Keragaman genetik berdasarkan 10 pasangan primer pada <i>P. celebicum</i> menggunakan marka SRAP.....	51
Tabel 4.3. Keragaman genetik berdasarkan 10 pasangan primer pada <i>P. decumanum</i> menggunakan marka SRAP.....	51
Tabel 4.4. Keragaman genetik berdasarkan 10 pasangan primer pada <i>P. porphyrophyllum</i> menggunakan marka SRAP.....	52
Tabel 4.5. Keragaman genetik berdasarkan 10 pasangan primer pada <i>P. cyrtostachys</i> menggunakan marka SRAP.....	52
Tabel 4.6. Keragaman genetik secara keseluruhan <i>Piper</i> wilayah Malesia berdasarkan 10 pasangan primer menggunakan marka SRAP.....	53
Tabel 4.7. Keanekaragaman genetik <i>Piper</i> Kawasan Malesia menggunakan popgene.....	54
Tabel 4.8. Matriks <i>Piper</i> berdasarkan Nei's 1972.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur pohon dalam studi filogenetika	14
Gambar 2.2. <i>Piper porphyrophyllum</i> N.E.Br.	17
Gambar 2.3. <i>Piper decumanum</i> L.	18
Gambar 2.4. <i>Piper celebicum</i> Blume	19
Gambar 2.5. <i>Piper cyrtostachys</i> Ridl.	20
Gambar 2.6. Skema Mekanisme RLFP	21
Gambar 2.7. Skema Mekanisme ALFP	22
Gambar 2.8. Skema Mekanisme RAPD.....	23
Gambar 2.9. Skema Mekanisme ISSR.....	24
Gambar 2.10. Skema Mekanisme SSR	25
Gambar 2.11. Ilustrasi Skema SRAP	26
Gambar 2.12. Peta Geografi Kawasan Malesia	30
Gambar 3.1. Program PCR SRAP	41
Gambar 3.2. Alur Penelitian.....	44
Gambar 4.1. Elektroforegam hasil ekstraksi DNA	45
Gambar 4.2. Elektroforegam hasil seleksi komposisi PCR 1 , 2 dan 3.....	46
Gambar 4.3. Elektroforegam hasil seleksi 25 pasang primer.....	47
Gambar 4.4. Elektroforegam pasangan primer A) Me4-Em2.....	47
Gambar 4.5. Elektroforegam pasangan primer B) Me4-Em5, C) Me5-Em2, D) Me5-Em5	48
Gambar 4.6. Elektroforegam pasangan primer E) Me4-Em4, C) Me5-Em4, D) Me4-Em1	49
Gambar 4.7. Elektroforegam Elektroforegam pasangan primer H) Me5-Em1, I) Me4-Em3, J) Me2-Em1	50
Gambar 4.8. Dendogram yang menunjukkan jarak keragaman genetik berdasarkan analisis Popgen Nei's 1972	54
Gambar 4.9. Dendogram <i>Piper celebicum</i>	55
Gambar 4.10. Dendogram <i>Piper decumanum</i>	55
Gambar 4.11. Dendogram <i>Piper porphyrophyllum</i>	56
Gambar 4.12. Dendogram <i>Piper cyrtostachys</i>	56

Gambar 4.13. Dendogram *Piper* spp. Kawasan Malesia 57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian	83
Lampiran 2. Tabel Urutan Basa Nukleotida	85
Lampiran 3. Jadwal Penelitian	86
Lampiran 4. Indeks Similaritas Dice.....	87